



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

**“Efecto de la ultrasonificación y adición de *L. casei* ATCC 334  
microencapsulado en las propiedades reológicas y antioxidantes  
de un producto fermentado untable a base de sólidos de  
almendra”**

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

PRESENTA

**Ing. Juan Antonio Alvarez Sinécio**

DIRECTORA DE TESIS

**Dra. Silvia Lorena Amaya Llano**

Santiago de Querétaro, Querétaro, noviembre de 2025.

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**“Efecto de la ultrasonificación y adición de *L. casei* ATCC 334  
microencapsulado en las propiedades reológicas y antioxidantes  
de un producto fermentado untado a base de sólidos de  
almendra”**

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro en Ciencias y  
Tecnología de Alimentos

**Presenta:**

Ing. Juan Antonio Alvarez Sinecio

**Dirigido por:**

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

**SINODALES**

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Beneranda Murúa Pagola  
Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Carlos Regalado González  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Lucía Guadalupe Abadía García  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dr. José Santos Cruz  
Director de la Facultad de Química

\_\_\_\_\_  
Dr. Manuel Toledano Ayala  
Director de Investigación y Posgrado

Santiago de Querétaro, Querétaro, noviembre de 2025

No duermas para descansar, duerme para soñar.  
Porque los sueños están para cumplirse.

- *WALT DISNEY*

## **DEDICATORIA**

A mis papás, cuyo amor ha sido la luz que siempre me guía. Cada página de esta tesis lleva su huella, porque mi camino no habría tenido rumbo sin su amor, apoyo y su fe inquebrantable en mí.

Y a mí mismo, por mantenerme en pie incluso cuando la desmotivación, la ansiedad y el estrés me detuvieron, y aun así seguir avanzando hasta concluir este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT). Por la beca otorgada para realizar los estudios de maestría CVU: 1287563.

A Dios, por guiarme por el camino del bien y darme las fuerzas necesarias para poder realizar el presente trabajo y así cumplir una más de mis metas.

A mis papás, por enseñarme que el conocimiento florece mejor cuando se riega con confianza, palabras sabias, amor, comida rica y abrazos que sostienen incluso en los días más difíciles, gracias por sostener mis sueños con sus manos y por enseñarme a ser siempre fuerte y resiliente.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Química, por brindarme las herramientas y el entorno para desarrollar mi vocación científica.

A la Dra. Silvia, por todo su apoyo, gracias por abrirme las puertas de su laboratorio.

A la Dra. Lucy, por su valiosa orientación, atención, apoyo constante y por enriquecer este trabajo con sus conocimientos y experiencia.

A la Dra. Karina, por siempre escucharme hablar de otros temas fuera de la ciencia.

A la Dra. Carmen, por sus valiosas observaciones y sugerencias. Su compromiso y dedicación fueron fundamentales para fortalecer y dar mayor profundidad a este trabajo.

A la Dra. Flor por su ayuda en el uso de los equipos de uso múltiple, por su amabilidad y atención constante.

Al Dr. Carlos Regalado y la Dra. Sandra, integrantes del comité, por sus valiosas observaciones y sugerencias.

A Lulú, una excelente técnica del laboratorio, agradezco sinceramente el tiempo, tu amistad y la atención que me dedicaste durante mi estancia en el laboratorio. Gracias por aligerar los días pesados hablando de todo, gracias.

A todo el equipo del Laboratorio LIDA, en especial a David por su compañerismo al inicio de la maestría y a Alma por su apoyo, colaboración, amistad y disposición para compartir sus conocimientos.

A mis amigos de generación —Pola, Pau, Nicole, Juan Carlos, David y Luis— por las risas, las charlas, el apoyo emocional, las lágrimas. Por ser la salida a este entorno de estrés y de apatía.

A mi Luca, por acompañarme en mis desvelos y ser testigo fiel de cada intento, quien con su silencio y ternura hizo más ligeros los días difíciles.

## **DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE**

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Ing. Juan Antonio Alvarez Sinecio

## RESUMEN

En los últimos años se ha incrementado el consumo de productos de origen vegetal por motivos como la aversión a la crueldad con los animales, el deseo de un estilo de vida sano y la conciencia medioambiental relacionada con el impacto de la producción de alimentos de origen animal. Productos vegetales, aunque están siendo muy populares aún presentan desafíos como menor estabilidad de emulsión comparado a los productos de origen lácteo. En este contexto, el ultrasonido de alta intensidad puede ser utilizado para mejorar estos desafíos. Los productos a partir de dispersiones de almendra han adquirido relevancia; en particular, los productos fermentados pueden ser utilizados como fuente de probióticos y de otras sustancias bioactivas. La microencapsulación de probióticos confiere protección a los probióticos mejorando su sobrevivencia en matrices vegetales. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido y la adición del probiótico *Lactocaseibacillus casei* ATCC 334 en su forma libre y microencapsulado en una matriz de almidón fosfatado e inulina, en las propiedades reológicas y antioxidantes de un producto fermentado untable formulado a partir de sólidos de almendra. Dispersiones de sólidos de almendra fueron ultrasonificados a dos diferentes amplitudes (40 y 80 %) y dos tiempos de exposición (2.5 y 5 min) a 20 kHz, se evaluó su estabilidad y la actividad antioxidante por los métodos ABTS, DPPH y FRAP. El tratamiento ultrasonificado a una amplitud de 40 % durante 5 min exhibió las mejores propiedades antioxidantes y de estabilidad por lo que fue utilizado para el desarrollo del producto fermentado de almendra adicionado del probiótico. El probiótico libre y encapsulado fue estable durante el almacenamiento a 4° C durante 21 días. Las células microencapsuladas mostraron mayor tolerancia y a condiciones del tracto gastrointestinal simuladas. Durante el almacenamiento las formulaciones ultrasonificadas y fermentadas incrementaron gradualmente la capacidad antioxidante en las muestras analizadas durante el almacenamiento. El tratamiento con células encapsuladas registró mayores valores de firmeza ( $0.95 \pm 0.09$ ) y de untabilidad. Estos resultados sugieren que la aplicación de ultrasonido y fermentación en matrices a base de vegetales mejoran la textura, estabilidad y capacidad antioxidante.

**PALABRAS CLAVE:** Almendra, producto fermentado alternativo de leche, ultrasonificación, microencapsulación.



## ABSTRACT

In recent years, the consumption of plant-based products has increased due to reasons such as aversion to animal cruelty, the desire for a healthy lifestyle, and environmental awareness related to the impact of animal-based food production. Plant-based products, although becoming very popular, still present challenges such as lower emulsion stability compared to dairy-based products. In this context, high-intensity ultrasound can be used to improve these challenges. Products derived from almond dispersions have gained relevance; in particular, fermented products can be used as a source of probiotics and other bioactive substances. The microencapsulation of probiotics provides protection to probiotics, improving their survival in plant matrices. The objective of this research was to evaluate the effect of ultrasound application and the addition of the probiotic *Lactocaseibacillus casei* ATCC 334 in its free and microencapsulated form in a matrix of phosphorylated starch and inulin, on the rheological and antioxidant properties of a spreadable fermented product formulated from almond solids. Almond solid dispersions were sonicated at two different amplitudes (40 and 80%) and two exposure times (2.5 and 5 min) at 20 kHz; their stability and antioxidant activity were evaluated using the ABTS, DPPH, and FRAP methods. The sonicated treatment at 40% amplitude for 5 min exhibited the best antioxidant and stability properties and was therefore used for the development of the fermented almond product supplemented with the probiotic. The free and encapsulated probiotic was stable during storage at 4 °C for 21 days. The microencapsulated cells showed greater tolerance to simulated gastrointestinal tract conditions. During storage, the sonicated and fermented formulations gradually increased the antioxidant capacity in the samples analyzed. The treatment with encapsulated cells recorded higher values of firmness ( $0.95 \pm 0.09$ ) and spreadability. These results suggest that the application of ultrasound and fermentation in plant-based matrices improves texture, stability, and antioxidant capacity.

**KEY WORDS:** Almond, fermented plant-based milk products, ultrasound, microencapsulation.

## INDICE GENERAL

### Página

RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vi
INDICE GENERAL.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	xi
INDICE DE CUADROS .....	xii
1. INTRODUCCIÓN .....	13
2. ANTECEDENTES.....	15
2.1 Productos de origen vegetal alternativos a lácteos.....	15
2.1.1 Productos untables.....	16
2.2 Fermentación.....	17
2.3 Probióticos.....	18
2.3.1 <i>Lactocaseibacillus casei</i> .....	19
2.4 Microencapsulación .....	21
2.4.1 Materiales microencapsulantes para probióticos.....	22
2.4.2 Secado por aspersión.....	23
2.5 Ultrasonido de alta intensidad .....	25
2.5.1 Ultrasonido y su efecto en alimentos de origen vegetal .....	26
2.6 Almendra .....	27
2.6.1 Almendras y sus propiedades químicas .....	27
2.6.2 Beneficios de la almendra a la salud .....	29
3. JUSTIFICACIÓN.....	29
4. OBJETIVOS.....	32
4.1 General.....	32

4.2 Específicos .....	32
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
5.1 Materiales .....	33
5.2 Métodos.....	33
5.2.1 Preparación de las muestras.....	33
5.2.2 Tratamiento de ultrasonificación a la dispersión de almendra.....	33
5.2.3 Capacidad antioxidante .....	34
5.2.3.1 Ensayo ABTS.....	34
5.2.3.2 Ensayo DPPH .....	35
5.2.3.3 Ensayo FRAP.....	35
5.2.4 Evaluación de la estabilidad física.....	36
5.2.5 Preparación del producto untable de almendra .....	37
5.2.6 Microencapsulación de <i>L.casei</i> y caracterización fisicoquímica de las capsulas obtenidas por secado por aspersión .....	38
5.2.6.1 Activación de <i>L. casei</i> .....	38
5.2.6.2 Preparación de la cepa para su microencapsulación.....	38
5.2.6.3 Proceso de microencapsulación de <i>L.casei</i> mediante secado por aspersión .....	38
5.2.6.4 Determinación de viabilidad de <i>L.casei</i> después del proceso de secado por aspersión.....	39
5.2.6.5 Determinación del contenido de humedad en las microcápsulas.....	39
5.2.6.6 Determinación la actividad de agua en las microcápsulas .....	39
5.2.7 Fermentación del producto untable de almendra .....	40
5.2.7.1 Inoculación en el producto untable de almendra de <i>L. casei</i> en su forma libre y encapsulada .....	40

5.2.7.2 Viabilidad de <i>L. casei</i> libre y encapsulado en el producto untable de almendra durante almacenamiento.....	40
5.2.8 Determinación de las propiedades físicoquímicas del producto untable	41
5.2.8.1 Determinación de pH y la acidez titulable .....	41
5.2.9 Capacidad antioxidante del producto untable de almendra fermentado.	41
5.2.10 Estabilidad en la simulación in-vitro del tracto gastrointestinal (TGI) ...	42
5.2.11 Propiedades físicoquímicas y estructurales del producto untable de almendra .....	43
5.2.11.1 Análisis bromatológicos.....	43
5.2.11.2 Textura.....	43
5.2.11.3 Mediciones reológicas.....	45
5.2.11.4 Electroforesis .....	45
5.2.11.5 Metabolitos de bajo peso molecular .....	45
5.2.12 Diseño y análisis estadísticos.....	46
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	47
6.1. Evaluación de ultrasonido en las dispersiones de almendra .....	47
6.1.1. Evaluación de sinéresis.....	47
6.1.2. Evaluación de capacidad antioxidante y reductora de hierro .....	48
6.2. Microencapsulación de <i>L. casei</i> obtenido mediante por secado por aspersión .....	51
6.2.1. Rendimiento de encapsulación .....	51
6.2.2. Humedad y actividad de agua .....	52
6.3. Viabilidad antes y después de la encapsulación mediante secado por aspersión.....	53

6.4. Evaluación de la viabilidad de <i>L. casei</i> libre y encapsulado en el producto untable de almendra durante almacenamiento.....	54
6.5 Cambios fisicoquímicos y funcionales del producto untable a base de almendra durante almacenamiento .....	56
6.5.1 pH y acidez titulable .....	56
6.5.2. Capacidad antioxidante (FRAP, ABTS, DPPH) .....	58
6.6 Supervivencia durante simulación gastrointestinal .....	60
6.6.1 Comparación entre formas libre y encapsulada tras exposición a condiciones gástricas e intestinales simuladas .....	60
6.7. Propiedades físico-estructurales del producto untable de almendra .....	63
6.7.1 Análisis nutricional del producto.....	63
6.7.2 Análisis de textura del producto untable de almendra .....	64
6.7.3 Reología inicial y tras almacenamiento del producto fermentado untable de almendra .....	66
6.7.4 Electroforesis (SDS-PAGE): perfil de proteínas .....	72
6.7.5 Perfil de metabolitos de bajo peso molecular .....	74
6.8 Perspectivas y limitaciones del estudio .....	81
7. CONCLUSIONES .....	83
8. BIBLIOGRAFÍA .....	85

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Rangos de tamaño de partícula de salida de los diferentes métodos empleados para la microencapsulación de microorganismos probióticos	22
2	Esquema del proceso de encapsulación por medio de secado por aspersión	23
3	Curva de untabilidad “fuerza-tiempo”	43
4	Sinéresis de la dispersión de almendra bajo distintas condiciones del tratamiento ultrasónico	47
5	Capacidad antioxidante de la dispersión de almendra (mezcla de agua y harina de almendra)	48
6	Viabilidad de <i>L. casei</i> antes y después de la microencapsulación mediante secado por aspersión	52
7	Viabilidad de <i>L. casei</i> libre y encapsulado durante el almacenamiento del producto untable fermentado de almendra	54
8	pH y acidez titulable del producto untable fermentado con <i>L. casei</i> durante su almacenamiento	56
9	Viabilidad de <i>L. casei</i> libre y encapsulado en el producto untable fermentado de almendra durante su exposición a A) condiciones simuladas del tracto gástrico (0-100 min) y B) condiciones simuladas del tracto intestinal (160-220 min)	60
10	Barrido de deformación (A) y barrido de frecuencia (B) para muestras de fermentado de almendra a las 24 h de su preparación adicionado de <i>L. casei</i> ATCC 334 libre y encapsulado	68
11	Barrido de deformación (A) y frecuencia (B) para la muestra del producto untable ultrasonificado fermentado con <i>L. casei</i> microencapsulado (USFC) a los 21 días de su preparación	70
12	Perfil electroforético del producto untable a base de harina de almendra y los diferentes tratamientos	72

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Contenido nutricional de los granos de almendra. Rescatado de (USDA, 2019), (Tomishima, 2022)	<b>27</b>
2	Ingredientes de la formulación del producto untable de almendra	<b>36</b>
3	Formulación de diluciones digestivas simuladas	<b>41</b>
4	Rendimiento, actividad de agua y humedad del probiótico <i>L. casei</i> microencapsulado	<b>51</b>
5	Capacidad antioxidante del producto fermentado untable durante su almacenamiento	<b>57</b>
6	Viabilidad de <i>L. casei</i> ATCC 334 libre y encapsulado durante la simulación de las condiciones del tracto gastrointestinal	<b>61</b>
7	Composición nutrimental del producto untable fermentado a base de almendra	<b>62</b>
8	Efecto del ultrasonido y la fermentación con <i>L. casei</i> en las propiedades de textura del producto untable de almendra	<b>64</b>
9	Metabolitos de bajo peso molecular en la muestra del producto untable ultrasonificado sin fermentar de almendra (perfil base)	<b>75</b>
10	Metabolitos de bajo peso molecular en la muestra del producto untable ultrasonificado fermentado de almendra (perfil transformado)	<b>78</b>
11	Metabolitos que aumentaron o disminuyeron tras la fermentación	<b>81</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, un gran porcentaje de la población presenta problemas de salud relacionados con el consumo de productos lácteos, surgiendo preocupación sobre la elección de alimentos y los notables cambios en la dieta. Preocupaciones relacionadas con la ética, la intención de reducir el uso de ganado y el bienestar animal, las emisiones de gases por el efecto invernadero, entre otras hacen que los consumidores elijan alimentos de origen vegetal (Tachie et al., 2023).

Estas razones para la elección de este tipo de alimentos han generado un aumento en la demanda de mantequillas y untables libres de lácteos. La elaboración de alternativas vegetales a los untables, mantequillas o quesos crema ha sido favorecida por ingredientes como cacahuates, almendras, legumbres, semillas, que son ricos en grasas ya que estos productos no sólo aportan un alto contenido graso, sino también proteínas, fibra, ácidos grasos esenciales y diversos nutrientes. (Ningtyas, 2022). Existen desafíos en la producción de untables vegetales de alta calidad, uno de ellos radica en lograr una textura adecuada, buena capacidad de untado y evitar la separación de aceite, factores que influyen directamente en su estabilidad y vida útil del producto (He et al., 2023).

En este contexto, el uso de tecnologías como el ultrasonido en la producción de “alternativos a los productos lácteos de origen vegetal” ofrece ventajas ya que el ultrasonido no afecta la composición de los nutrientes de la matriz alimentaria y disminuye la necesidad de utilizar químicos o aditivos como espesantes y estabilizantes en la formulación. El ultrasonido puede también mejorar la estabilidad y funcionalidad del producto. Estos cambios benéficos contribuyen a mejorar la calidad del producto final y pueden proveer de beneficios adicionales para la salud (Sarangapany *et al.*, 2022).



Para cumplir con algunos otros desafíos que presentan los productos de origen vegetal alternativos a los lácteos, el proceso de fermentación puede contribuir a mejorar sus propiedades sensoriales, la composición nutricional y su perfil funcional y bioactivo. Los productos de origen vegetal alternativos a los lácteos fermentados han demostrado poseer diversos compuestos bioactivos como polifenoles y péptidos con diferentes propiedades biológicas (por ejemplo, antioxidantes, anti-inflamatorias y anti-hipertensivas). También, el proceso de fermentación puede mejorar el sabor de estos productos mediante la síntesis de moléculas orgánicas como el ácido acético, así como mejorar la digestibilidad y biodisponibilidad de nutrientes (Hidalgo-Fuentes *et al.*, 2024). Además, las cepas probióticas aportan grandes beneficios a la salud del organismo humano cuando son consumidas en cantidades adecuadas. En los últimos años, ha crecido el interés por producir alimentos funcionales que contengan bacterias probióticas (Frakolaki *et al.*, 2020).

Durante las distintas etapas de preparación, las bacterias probióticas se enfrentan a diversos factores, como el estrés oxidativo, los cambios de acidez y la temperatura, entre algunos otros. Estos factores pueden afectar su viabilidad en el alimento. También, cuando pasan por el tracto gastrointestinal, los probióticos sufren los efectos adversos de enzimas como la pepsina y los bajos valores de pH en el estómago. Además, se ven afectados por el antagonismo relacionado con la actividad antimicrobiana de las sales biliares y enzimas proteolíticas presentes en el intestino. Para proteger a los probióticos durante estas etapas, se pueden utilizar técnicas de microencapsulación (Murúa *et al.*, 2016).

Parte importante de este estudio es mencionar que en el caso de productos derivados de plantas (con características semejantes a los productos de origen animal), será más preciso referirse a ellos como “alternativas a la leche, de origen vegetal” (Brusati *et al.*, 2023). De aquí en adelante, en este trabajo, utilizaremos el término “dispersión de almendra” para referirnos a la mezcla de harina de almendra

y agua, y “producto untable de almendra” para referirnos a la dispersión de almendra mezclado con gomas estabilizantes o hidrocoloides, a menos que en algunas circunstancias, se necesite agregar los términos distintos o en conjunto de “fermentado” y “ultrasonificado” para un análisis y una discusión más significativos.

Existe información muy limitada relacionada con la adición de probióticos encapsulados a productos vegetales, así como estudios que evalúen el efecto de su incorporación en las propiedades fisicoquímicas de alimentos. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un producto funcional fermentado untable a base de una dispersión de almendra con características probióticas y antioxidantes, usando ultrasonido y adicionando probióticos microencapsulados (*Lactocaseibacillus casei* ATCC 334).

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Productos de origen vegetal alternativos a lácteos**

En los últimos años, los alimentos y bebidas de origen vegetal se han posicionado como alternativas a los productos animales convencionales, en particular a los lácteos. El mercado de sustitutos de origen vegetal se ha expandido significativamente, ofreciendo opciones que buscan asemejarse en sabor, textura, apariencia y funcionalidad a los alimentos como leche, yogurt, queso, huevo, carne y pescado (Askew, 2022). La elección de estos productos por parte de los consumidores responde a diversos factores: preferencias dietéticas (vegetarianas o veganas), razones de salud, prácticas religiosas, así como preocupaciones ambientales y éticas. Esta creciente demanda ha motivado a organismos como la FDA (2023) a emitir lineamientos específicos para el etiquetado de bebidas vegetales y otros análogos, con el objetivo de garantizar información clara al consumidor y favorecer decisiones dietéticas más conscientes. En general, la evidencia sugiere que los alimentos vegetales representan una alternativa viable a

las proteínas animales, pues aportan beneficios nutricionales, reducen el uso de recursos y responden a métodos de producción más sostenibles (Padilla *et al.*, 2020).

Las tendencias actuales reflejan un interés en reducir la dependencia de alimentos de origen animal, ya que estos presentan un alto impacto ambiental. Así, los productos de origen vegetal se promueven como una opción más sostenible, al requerir menos recursos y generar una menor huella de carbono (Short *et al.*, 2021). Sin embargo, el avance de esta industria emergente depende de una constante investigación y desarrollo, orientada a superar limitaciones tecnológicas y de aceptación. Entre los más destacados se encuentra el diversificar las fuentes vegetales para mejorar la funcionalidad y repetición de compra, optimizar el perfil sensorial (sabor, textura y aroma) para asemejarse o superar al producto de origen animal y finalmente, asegurar la sostenibilidad de la cadena productiva mediante el uso de cultivos locales y trazabilidad en los procesos (Askew, 2022).

Dentro de estas alternativas, los productos untables destacan como una categoría de interés. El queso crema lácteo, ampliamente consumido en el mundo con aplicaciones en la industria de alimentos preparados, presenta como limitante su alto contenido de grasas saturadas, sodio y calorías (USDA, 2019). Por ello, la elaboración de quesos untables de origen vegetal se ha planteado como una alternativa con un mejor perfil nutricional con potencial funcional.

### **2.1.1 Productos untables**

Existen dos enfoques principales en el desarrollo de productos untables a base de vegetales, el primero es imitar los atributos sensoriales del queso crema convencional, lo cual implica reproducir su textura, sabor, aroma y untabilidad, y la segunda es generar propuestas únicas a partir de ingredientes vegetales,

destacando sus propiedades propias sin buscar una equivalencia directa con el lácteo (Short et al., 2021).

El principal reto de este tipo de alimentos es que los ingredientes vegetales no reproducen de manera precisa las características del queso de leche, lo que limita la aceptación del consumidor (Hortencia, 2025).

Estudios previos han explorado productos untables a base de soya, empleando procesos de coagulación enzimática, química o ácida. Se ha demostrado que el tipo de coagulante empleado influye significativamente en la vida útil, composición nutricional, calidad sensorial y rendimiento del producto final (Jeewanthi y Paik, 2018). No obstante, persisten los retos de estabilidad de la emulsión, sinéresis, firmeza y aceptación sensorial, la capacidad untable y la sensación cremosa de los productos untables son aspectos fundamentales, ya que están estrechamente vinculados con la satisfacción del consumidor. El consumidor suele asociar la cremosidad y la percepción de una consistencia viscosa, suave al tacto, untuosa y con una sensación que cubre toda la boca con un elevado contenido de grasa (Richardson-Harman *et al.*, 2000).

## **2.2 Fermentación**

La fermentación es un proceso biotransformativo en el cual, principalmente bacterias y hongos, aprovechan la energía obtenida de la descomposición de sustratos ricos en carbohidratos para su propio crecimiento. Como resultado, estos microbios alteran el sustrato y producen una diversidad de metabolitos de gran valor para los humanos. Este proceso fermentativo está meticulosamente regulado tanto en las poblaciones microbianas presentes como en los parámetros físicos, como la temperatura y el pH. La aplicación más común y significativa de la fermentación sigue siendo la producción o mejora de alimentos y bebidas (Rastogi *et al.*, 2022).

Las fermentaciones generalmente involucran la acción de microorganismos, como las BAL (bacterias del ácido láctico) y levaduras, que utilizan compuestos presentes en el sustrato crudo. Las BAL comprenden un conjunto de bacterias que incluyen géneros como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, las cuales encontramos frecuentemente en la fermentación de alimentos lácteos. Además de los productos lácteos, las BAL también se encuentran en la fermentación de alimentos vegetales, cereales y carnes (Mathur *et al.*, 2020).

Durante mucho tiempo, procesos tradicionales como la fermentación han sido reconocidos por mejorar la calidad nutricional de los alimentos. Además, la fermentación se ha empleado para la producción de una variedad de componentes alimentarios menores, como antioxidantes, colorantes, saborizantes, enzimas y vitaminas (Augustin *et al.*, 2023). La fermentación de alimentos tiene varios beneficios, entre los cuales se destacan mejoras en la seguridad alimentaria, la biodisponibilidad nutricional, la calidad de los nutrientes y una mejor calidad sensorial. También conduce a la producción de metabolitos secundarios en dispersiones vegetales y reducción del comportamiento alergénico de algunos de sus componentes, además de una reducción de sustancias antinutricias y toxinas (Rahim *et al.*, 2023).

### **2.3 Probióticos**

La Organización de Alimentos y Agricultura (FAO) y la organización mundial de la salud (OMS) definen a los probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, generan un beneficio para la salud del huésped”, principalmente durante el proceso de reemplazo o inclusión de cepas benéficas de bacterias en el tracto gastrointestinal, por tanto, las cepas contenidas en el producto final deben permanecer viables en un número suficiente después del proceso de elaboración, transportación y almacenamiento del producto (Nahiya y

Nigam, 2023), alcanzando poblaciones de  $10^6$ - $10^7$  UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo, al final de la vida de anaquel del producto (Frakolaki, 2020).

Los probióticos han sido tradicionalmente adicionados en productos lácteos fermentados, como yogures probióticos, o han sido incorporados en otros productos lácteos como queso, requesón, suero de leche fermentado y bebidas lácteas. En la selección de cepas probióticas para estos productos, no solo se consideran sus beneficios para la salud, sino también su contribución a la fermentación y las características del producto final. En los sistemas alimentarios, las cepas probióticas deben enfrentarse a diversas condiciones adversas, como altas temperaturas, ambientes ácidos, mezclado con alto cizallamiento, procesos de congelación y descongelación, y almacenamiento prolongado a temperaturas refrigeradas. Por lo tanto, la elección de materiales adecuados para proteger eficazmente las bacterias probióticas es crucial (Frakolaki *et al.*, 2020).

Los productos lácteos fermentados han sido los vehículos tradicionalmente usados como vehículos de probióticos, sin embargo, la incorporación de cepas probióticas a matrices alimentarias “diferentes” como las de origen vegetal ha incrementado en los últimos años. En este contexto, los alimentos fermentados (a base de plantas) han aumentado su popularidad como vectores para la incorporación de microorganismos probióticos y consecuentemente el interés de investigación y desarrollo de productos probióticos no lácteos (Rasika *et al.*, 2021). Las BAL, principalmente *Lactobacillus* spp., así como algunas que no pertenecen a ese grupo como las *Bifidobacterium* spp., son los probióticos más empleados en la fermentación de alimentos lácteos y no lácteos (Zahrani & Shori, 2023).

### **2.3.1 *Lactocaseibacillus casei***

Dentro de los microorganismos probióticos se encuentran los *Lactocaseibacillus casei*, que son bacterias grampositivas, teniendo la capacidad de vivir en ausencia

de O<sub>2</sub> o en ambientes con baja concentración de O<sub>2</sub>, no forman esporas, resisten ambientes ácidos y no producen catalasa. Cuentan con peptidoglicanos idénticos (D -Asp - L -Lys). El grupo de *Lactocaseibacillus* se divide en tres grupos: *L. paracasei*, *L. casei* y *L. rhamnosus*, que se relacionan tanto filogenética como fenotípicamente. Algunas cepas probióticas reconocidas son *L. casei* spp. *Shirota* y *L. rhamnosus* GG (Huang *et al.*, 2018).

El grupo *Lactocaseibacillus casei* (LCG) es objeto de numerosos estudios debido a su relevancia comercial, industrial y sanitaria. En el ámbito comercial, se emplean para fermentar productos lácteos y no lácteos, lo que a menudo mejora el sabor y la textura de los alimentos. Destaca como cultivo iniciador por su capacidad de acidificar rápidamente las materias primas y producir compuestos bioactivos como bacteriocinas, vitaminas y enzimas, que contribuyen tanto a la seguridad como a las propiedades funcionales del alimento (Taşkın & Bağdatlıoğlu, 2020).

Estudios previos han identificado a *L. casei* en la fermentación espontánea de productos y bebidas de origen vegetal como dispersiones de soya y almendra, junto con otras BAL, lo que sugiere su potencial como matrices para el desarrollo de alimentos probióticos (Tamang *et al.*, 2021).

Sin embargo, la incorporación de estos probióticos en matrices de origen vegetal representa un desafío tecnológico, principalmente debido a su limitada viabilidad durante el procesamiento, almacenamiento y tránsito gastrointestinal. A diferencia de los productos lácteos en los que la grasa, las proteínas y la presencia de tampones naturales como la caseína que brindan un entorno protector, las matrices vegetales suelen carecer de estos componentes y presentan características menos favorables para la supervivencia microbiana (De Bellis *et al.*, 2021). En este sentido, diferentes investigaciones han sugerido el uso de tecnologías de protección para los probióticos como la microencapsulación (Vivas *et al.*, 2023).

## 2.4 Microencapsulación

La microencapsulación se puede definir como un proceso mecánico o fisicoquímico y como una técnica de procesamiento de alimentos de vanguardia que encapsula diversos compuestos (agente activo) dentro de un material específico, formando pequeñas esferas con una membrana semipermeable pero fuerte que tiene un diámetro que va desde 1µm hasta varios cientos de µm (Frakolaki *et al.*, 2020). Esta tecnología se utiliza para proteger compuestos sensibles y costosos proporcionándoles una pared protectora que les permite ser liberados de manera segura en un sitio particular, en un momento particular, y bajo condiciones particulares (Choudhury *et al.*, 2021).

Frakolaki *et al.* (2020) mencionan que la microencapsulación y la inclusión de microorganismos probióticos dentro de las esferas formadas son soluciones altamente prometedoras para preservar niveles óptimos de viabilidad. Estas técnicas tienen el potencial de optimizar las condiciones de la supervivencia de probióticos en condiciones adversas mientras se procesan, durante su almacenamiento o su paso en el sistema gastrointestinal. Habiendo numerosos estudios realizados en esta área, las tecnologías de microencapsulación y los agentes encapsulantes actuales aún no pueden garantizar un mantenimiento óptimo de la viabilidad en todas las circunstancias. Por lo tanto, se necesita continuar investigando en este campo para perfeccionar estas técnicas y maximizar la eficacia de la entrega de probióticos.

Los lactobacilos, en general, se consideran más resistentes que otras bacterias, específicamente muestran una mayor resistencia a un pH bajo y una mejor adaptabilidad a la leche y otros sustratos alimentarios. Sin embargo, las propiedades y beneficios de los probióticos no dependen solo del género, sino también de la cepa. Cada cepa es única, por lo que es necesario determinar sus características específicas. Por ejemplo, cepas como *L. casei* y *L. acidophilus* han



demostrado capacidad para sobrevivir en un ambiente gástrico simulado (jugo gástrico artificial a un pH de 3,0 y a 37°C) (Frakolaki *et al.*, 2020).

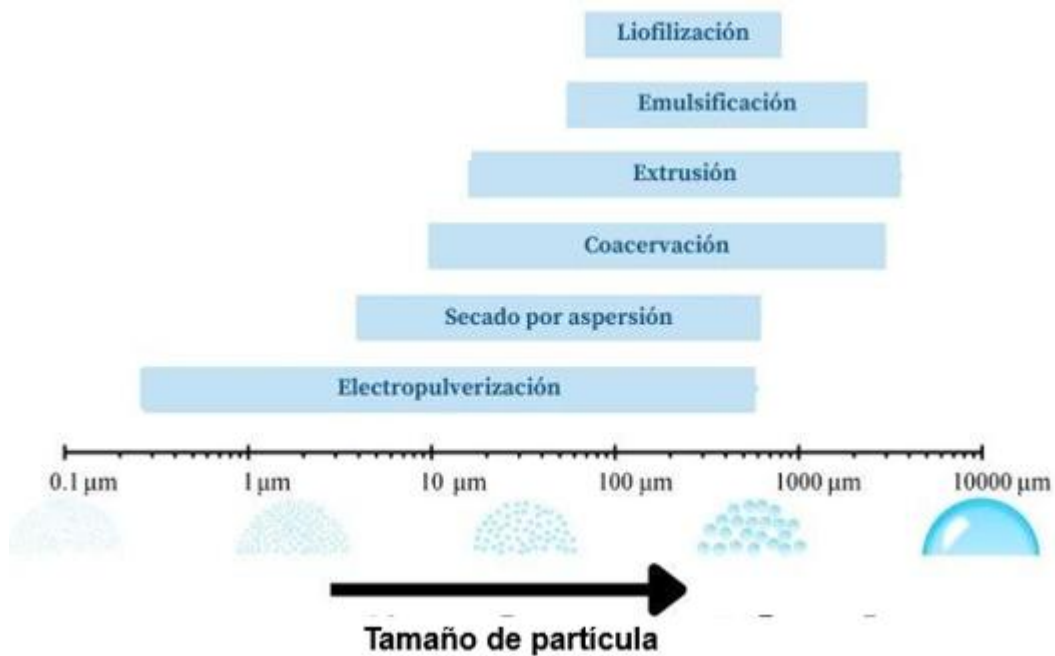
Los alimentos que pueden ser usados como vehículos de bacterias probióticas exhiben limitaciones en relación a mantener la viabilidad de las células asociadas a parámetros como la acidez de las matrices alimentarias y/o la exposición al oxígeno que limita su efectividad en la mayoría de los alimentos funcionales, así como a las condiciones particulares de procesamiento y almacenamiento. Desafortunadamente, la mayoría de los probióticos carecen de la capacidad de sobrevivir en grandes cantidades en el tracto gastrointestinal. Por este motivo, la microencapsulación representa una opción adecuada para proteger a los probióticos del pH bajo, las sales biliares y otros productos constituyentes a los que son sometidos durante el trayecto digestivo (Shori, 2017).

#### **2.4.1 Materiales microencapsulantes para probióticos**

Dependiendo del método de microencapsulación, se utilizan distintos materiales de revestimiento considerando sus propiedades reológicas, su capacidad para dispersar el compuesto activo y estabilizarlo, así como su capacidad para retener adecuadamente el compuesto activo. También es importante que sea sostenible y económico (Choudhury, 2021).

Las propiedades de los materiales formadores de películas comestibles son cruciales al formular un recubrimiento comestible para la microencapsulación. Dado que los probióticos son microorganismos vivos sensibles a la presencia de agua o gases (O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>), los materiales de recubrimiento deben proporcionar protección contra estos factores. Además, deben cumplir con estándares de calidad y seguridad alimentaria, no reaccionar químicamente con los materiales centrales y tener propiedades reológicas que faciliten su manipulación durante el proceso de encapsulación. Los materiales de recubrimiento también deben ser solubles en los

solventes comúnmente utilizados en el proceso de microencapsulación, como agua o etanol (De la Cruz *et al.*, 2020). En la Figura 1 se muestra la dispersión en el tamaño de partícula de cápsulas producidas por diferentes métodos de encapsulación.



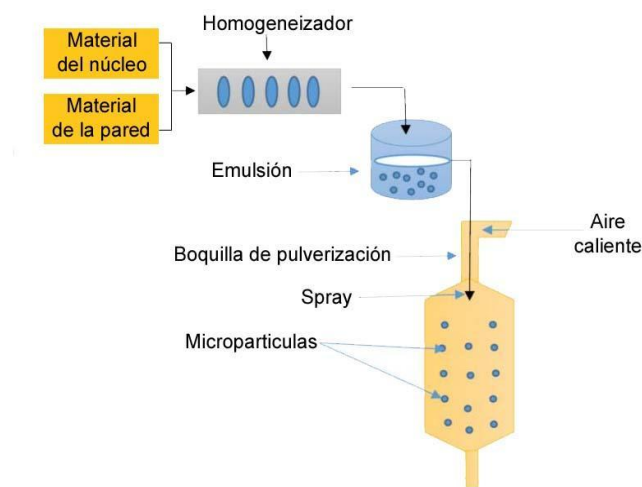
**Figura 1.** Rangos de tamaño de partícula de salida de los diferentes métodos empleados para la microencapsulación de microorganismos probióticos (Modificada de De la Cruz *et al.*, 2020).

#### 2.4.2 Secado por aspersión

El secado por aspersión es una técnica para microencapsulamiento de compuestos que ha ganado gran popularidad en la industria de alimentos para la producción de distintas variedades de ingredientes, siendo preferida sobre otras técnicas de secado. Su aplicación se ha extendido recientemente a la producción de alimentos funcionales, productos farmacéuticos y nutracéuticos. La encapsulación mediante

secado por aspersión es altamente valorada debido a sus ventajas económicas comparándola con otros métodos de encapsulación (Mohammed *et al.*, 2020).

Mortazavian *et al.* (2007) refiere que el proceso involucra factores como altas temperaturas, deshidratación y fuerzas de corte. Esta técnica, usualmente se emplea para obtener partículas de 1 a 1000  $\mu\text{m}$  de ingredientes alimentarios u otros materiales. Además, esta técnica puede permitir la liberación controlada del contenido encapsulado bajo ciertas condiciones (Da Veiga *et al.*, 2019). La Figura 2 muestra un esquema del proceso de microencapsulación por secado por aspersión.



**Figura 2.** Esquema del proceso de encapsulación por medio de secado por aspersión (Modificado de Mohammed *et al.*, 2020).

Diversos compuestos han sido empleados como materiales de pared en la microencapsulación de probióticos mediante secado por aspersión, entre los que destacan la leche en polvo, la pectina, el almidón y sus derivados, la caseína y las proteínas de suero, la maltodextrina (MD), la goma arábica (GA) y la leche descremada en polvo (RSM) (Gul, 2017). La GA es ampliamente utilizada debido a su alta solubilidad y excelentes propiedades emulsionantes, actuando además

como un tensioactivo natural; sin embargo, su uso a gran escala en la industria alimentaria se ve limitado por su alto costo, y en contraste, la MD se emplea de manera frecuente en alimentos con un bajo costo y buena capacidad como agente de secado, aunque presenta escasa capacidad emulsionante y baja retención de compuestos volátiles, lo que restringe su funcionalidad cuando se utiliza de manera aislada. Por ellos, suele combinarse con otros polímeros para mejorar la estabilidad de las microcápsulas (Parhizkary et al., 2025)

Diversos estudios han demostrado que el almidón con alto contenido de amilosa actúa como agente protector que mejora la supervivencia del encapsulado frente a condiciones intestinales. Esta característica lo convierte en un vehículo para la liberación dirigida y potencial funcional en colon, donde pueden ejercer sus beneficios sobre la microbiota intestinal (Bamidele et al., 2018).

Asimismo, otros materiales como los polisacáridos de origen vegetal (inulina, alginato, goma xantana y carragenina) han mostrado un papel relevante en la estabilización de probióticos, no solo por sus propiedades gelificantes y de formación de películas, sino también por su contribución prebiótica (Shanuke et al., 2025).

En estudios recientes, la combinación de inulina con otros agentes de pared permite alcanzar una supervivencia cercana al 90% de algunos probióticos bajo condiciones óptimas de secado por aspersión (150°C y 220°C de temperatura de entrada), así mismo durante su almacenamiento, reportando una mayor estabilidad de los microorganismos a 4°C que a 25°C, lo que evidenció el efecto protector de la matriz encapsulante (Bustamante et al., 2020).

## **2.5 Ultrasonido de alta intensidad**

El ultrasonido es definido como una onda de sonido con una frecuencia que supera el límite audible para el oído humano, que es de aproximadamente 20 kHz. Cuando

el ultrasonido actúa sobre un medio líquido, genera presiones positivas que resultan en una compresión y expansión periódica de las moléculas del medio líquido (Yuan *et al.*, 2021).

El ultrasonido aprovecha fenómenos físicos y químicos que difieren principalmente de las técnicas convencionales de extracción, procesamiento o conservación. Esta tecnología ofrece una ventaja importante en términos de productividad, rendimiento y selectividad, con tiempos de procesamiento mejorados, mayor calidad, menor riesgo de contaminación química y física, y un enfoque respetuoso con el medio ambiente (Chémat *et al.*, 2011).

### **2.5.1 Ultrasonido y su efecto en alimentos de origen vegetal**

El ultrasonido ha surgido como una herramienta innovadora que, aplicada en productos de origen vegetal, puede modificar estructuras coloidales, mejorar la dispersión de proteínas y lípidos, incrementar la biodisponibilidad de antioxidantes y, en conjunto, optimizar las propiedades reológicas y sensoriales (Ampofo & Ngadi, 2022). Las propiedades físicas y funcionales de alimentos de origen vegetal como la dispersión de almendra (agua y harina) que se ven influenciadas por esta tecnología son los grados Brix, estabilidad física, tamaño de partícula, atributos de color y propiedades reológicas (Sarangapany *et al.*, 2022). En investigaciones previas, Maghsoudlou *et al.* (2015) demostraron que los valores de grados Brix de muestras sometidas a ultrasonido disminuyen en comparación con las muestras no sometidas.

El ultrasonido permite tanto mejorar la extracción de proteínas vegetales como modificar sus propiedades estructurales y funcionales. Su aplicación genera cavitación acústica, lo que rompe la matriz celular y favorece la solubilidad y rendimiento de extracción, además de inducir cambios en la conformación secundaria y terciaria de las proteínas. Estos efectos impactan directamente en

propiedades como la solubilidad, la emulsificación, la capacidad espumante y la reología, influyendo en la funcionalidad y calidad nutricional de los ingredientes vegetales (Rahman & Lamsal, 2021).

## **2.6 Almendra**

La almendra (*Prunus dulcis*, *amygdalus Batch*, o *Amygdalus communis* L.) constituye el fruto seco más producido a nivel mundial en territorios de clima árido y cálido (Zameer Hussain *et al.*, 2021), gracias a su excepcional composición nutricional, incluyendo ácidos grasos insaturados, bajo contenido en azúcares, niveles de proteínas altos, vitaminas y minerales, así como fitoquímicos que promueven la salud. Entre las innumerables variedades y cultivares de almendras, Mission, Nonpareil y California contribuyen con poco menos del 100% de la producción mundial actual (Garcia-Perez *et al.*, 2021).

### **2.6.1 Almendras y sus propiedades químicas**

Tomishima *et al.* (2022) reportaron que la composición nutricional de las almendras depende de varios factores (variedad, condiciones ambientales de cultivo, grado de madurez de la semilla y las condiciones de almacenamiento post cosecha). El departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (2019) reporta los datos a detalle del contenido nutrimental de la semilla de almendra que se muestra en el Cuadro 1.

De acuerdo a la información rescatada de la USDA (2018), la grasa es el componente principal presente en las almendras, de aproximadamente entre 46 % y 64 % considerando como principales los ácidos grasos monoinsaturados: ácido oleico, ácidos grasos poliinsaturados: ácido linoleico y los ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, dentro de los cuales se ha notado en estudios con humanos que una parte significativa de estos lípidos se metaboliza y asimila de forma gradual, mientras que otra porción no se procesa en absoluto.

Por otro lado, las almendras contienen entre un 10% y un 29% de proteína, con un promedio del 21%. Una porción de 30 g proporciona aproximadamente 6.3 g de proteína. La proteína de almendra es rica en arginina y tiene una buena digestibilidad (Yada *et al.*, 2011).

**Cuadro 1.** Contenido nutricional de los granos de almendra. Rescatado de (USDA, 2019; Tomishima, 2022)

<b>Macronutrientes</b>	<b>Rango (g/100 g)</b>	<b>Promedio (g/100 g)</b>
Humedad	1.68–6.53	4.25
Carbohidratos	14–26.63	21
Proteína	10-29	21
Lípidos totales	31.72–66.1	52.3
Azúcar	2.1–6.5	4.1
Ácidos grasos saturados	3.2–11,98	7.1
Ácidos grasos monoinsaturados	26.6–82.54	55.9
Ácidos grasos poliinsaturados	8.35–29.92	15.53
<b>Micronutrientes</b>	<b>Rango (mg/100 g)</b>	<b>Promedio (mg/100 g)</b>
Potasio	465–1,510	831
Calcio	160–663	271
Magnesio	159–404	304.0
Fósforo	310–938	597
Cobre	0.463–4.76	1.76
Manganeso	1.31–3.97	2.66
α-tocoferol	13.91–38	25
Vitamina B2 (Riboflavina)	0.46–2.26	1.25

### **2.6.2 Beneficios de la almendra a la salud**

La semilla de almendra es una excelente fuente de diversos nutrientes y han sido ampliamente estudiadas por su beneficioso impacto en el nivel de lípidos contenidos en la sangre y el control del peso. Cada vez es más popular como una fuente de proteína complementaria en dietas basadas en plantas. Desde el primer estudio que relacionó el consumo de almendras con una reducción en el riesgo de enfermedad coronaria en 1998, se han realizado numerosas investigaciones que asocian directamente el consumo de almendras con la reducción del colesterol LDL en la sangre, incluyendo un impacto positivo en la salud cardiovascular (Tomishima *et al.*, 2022).

Ensayos clínicos realizados por Barreca *et al.* (2020) consolidan la evidencia de los beneficios para la salud que se asocian al consumo de almendras. Gama *et al.* (2018) refieren que la ingesta diaria recomendada de almendras oscila entre 30 y 50 g como parte de una dieta equilibrada. Una ración típica de 30 g equivale aproximadamente a 23 almendras, dependiendo de la variedad.

## **3. JUSTIFICACIÓN**

En la actualidad, existe una creciente necesidad de productos de origen vegetal que respondan tanto a la tendencia de consumo saludable como a preocupaciones ambientales y éticas. El incremento de dietas vegetarianas o veganas, junto con la búsqueda de alternativas a los productos lácteos, ha impulsado la investigación y el desarrollo de alimentos funcionales “plant-based” capaces de ofrecer beneficios nutricionales y sensoriales equiparables a los de origen animal.

Sin embargo, los productos de origen vegetal presentan dificultades tecnológicas que limitan su aceptación y masificación. Entre estas se encuentran problemas en la estabilidad de la textura, baja capacidad de retención de agua, separación de fases (sinéresis), limitaciones en el perfil sensorial, menor aporte de proteínas de



alta calidad y, en el caso de alimentos fermentados, una reducción en la viabilidad de bacterias probióticas debido a la ausencia de matrices protectoras naturales presentes en productos lácteos.

Como una estrategia para superar estas dificultades tecnológicas, en los últimos años se ha propuesto el uso de tecnologías emergentes como la fermentación, la microencapsulación y el ultrasonido. La fermentación con probióticos no solo mejora el perfil sensorial y la digestibilidad, sino que también enriquece el alimento con compuestos bioactivos. La encapsulación permite proteger la viabilidad de microorganismos probióticos frente a procesos de elaboración y condiciones gastrointestinales adversas asegurando así su efecto funcional. Por su parte, el ultrasonido de alta intensidad se ha consolidado como una herramienta no térmica capaz de modificar estructuras moleculares y proteicas, mejorar la capacidad antioxidante y optimizar propiedades físico-químicas sin deteriorar nutrientes sensibles.

Estas tecnologías han demostrado mejoras en la estabilidad reológica, la bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes, la liberación controlada de probióticos y la obtención de texturas más homogéneas y atractivas en productos de origen vegetal. Su integración abre la posibilidad de diseñar matrices innovadoras que respondan a la demanda de alimentos funcionales y estables.

En este contexto, la almendra (*Prunus dulcis*) se posiciona como una materia prima relevante debido a su alto contenido de lípidos insaturados, proteínas vegetales, fibra dietética, compuestos fenólicos y vitaminas con actividad antioxidante. Además, su perfil nutricional está asociado a beneficios cardiovasculares y metabólicos, lo que incrementa su atractivo como base para el desarrollo de alimentos funcionales. Sin embargo, al transformarla en un producto untable,

enfrenta los retos ya mencionados, relacionados con la estabilidad de la emulsión y la aceptación sensorial.

Con base a lo anterior, el presente proyecto plantea desarrollar un producto untable a base de almendra con características probióticas, antioxidantes y de textura estable, mediante la incorporación de *Lactocaseibacillus casei* ATCC 334 en forma microencapsulada y el uso de ultrasonificación como tratamiento tecnológico, ofreciendo a los consumidores un alimento de origen vegetal que combine innovación tecnológica, valor nutricional y funcionalidad, contribuyendo al desarrollo de alternativas sostenibles para el consumidor.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 General**

Evaluar el efecto del ultrasonido y la adición de *L. casei* ATCC 334 microencapsulado en las propiedades reológicas y antioxidantes de un producto fermentado untable formulado a partir de sólidos de almendra.

### **4.2 Específicos**

- Evaluar el efecto de la ultrasonificación de la base formulada a base de sólidos de almendra a diferentes amplitudes sobre las propiedades de viscosidad y de estabilidad de emulsión.
- Evaluar la cinética de crecimiento y sobrevivencia del probiótico *L. casei* ATCC 334 microencapsulado y en forma libre en el producto fermentado de almendra durante el almacenamiento y condiciones simuladas del tracto gastrointestinal.
- Evaluar el efecto de ultrasonificación, fermentación y adición del probiótico sobre las propiedades reológicas y antioxidantes del producto fermentado.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Materiales**

Se trabajó con harina de almendra importada de la marca Campos Brothers Farms®. Sigma Chemical Co suministró los productos químicos y reactivos, como cloruro de calcio, etanol, persulfato de potasio,  $\alpha$ -amilasa, bicarbonato de sodio, agar MRS, pancreatina, fosfato de potasio dibásico, 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), trolox, saliva artificial, cloruro de sodio, pepsina, hidróxido de sodio, AzBTS-(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (ABTS), cloruro de potasio, cloruro férrico hexahidratado, 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), acetato de sodio trihidratado, ácido acético glacial, agua destilada y peptona de caseína. Kerry Inc suministró la goma de algarrobo y goma de xantana. Se utilizó el antibiótico vancomicina comercial, YO-PROX 753 (Bioprox, Qro., México) es la marca de los cultivos iniciadores comerciales que se utilizaron (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) y el probiótico de colección *Lactocaseibacillus casei* ATCC 334.

### **5.2 Métodos**

#### **5.2.1 Preparación de las muestras**

Se siguió la técnica descrita por Mondragón et al. (2024) con algunas modificaciones. Se elaboró una dispersión de harina de almendra con un contenido de sólidos del 25% p/v en agua destilada precalentada a 80°C. La mezcla se homogenizó durante 10 minutos con ayuda de un turbolicuador, asegurando una dispersión uniforme de los sólidos. Posteriormente la dispersión fue pasteurizada a 80°C durante 10 minutos, enfriada rápidamente en un baño de hielo y almacenada a 4°C para su uso experimental.

#### **5.2.2 Tratamiento de ultrasonicación a la dispersión de almendra**

En este estudio, el diseño experimental contempló una primera etapa en la que la dispersión de almendra fue sometida a tratamientos de ultrasonicación con un equipo de Cole-Parmer, EUA, modelo AO-04711-50, a una frecuencia de 20 kHz y

una potencia de 500 W, utilizando una sonda de 13 mm. Para cada tratamiento se emplearon 100 mL de la dispersión de almendra a un 25% (p/v), considerando dos amplitudes (40 y 80%) y dos tiempos de exposición (2.5 y 5 min), lo que resultó en cuatro combinaciones experimentales.

A estos tratamientos se evaluó la capacidad antioxidante y el porcentaje de sinéresis, seleccionándose aquel que presentó la mejor respuesta tecnológica y funcional para emplearse en la etapa principal del estudio.

### **5.2.3 Capacidad antioxidante**

#### **5.2.3.1 Ensayo ABTS**

La dispersión de almendra se sometió a homogenización para garantizar que la muestra fuera representativa. Se mezcló 1 mL de la muestra ultrasonidada con 4 mL de etanol al 80 % como solvente. La mezcla se agitó mediante un vortex durante un intervalo de 1 a 5 minutos y se dejó en reposo de 10 a 15 minutos para facilitar la extracción de los compuestos antioxidantes. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 5000 rpm durante 10 minutos para separar la fracción sólida. El sobrenadante (fase líquida) fue utilizado en la prueba de ABTS.

El protocolo que se siguió está descrito por Rivas-Vela *et al.* (2023). Se mezclaron 5mL del reactivo de AzBTS-(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (ABTS), a una concentración 7 mM y 88 µL de persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) 140mM. Esta mezcla se almacenó en oscuridad durante 12 horas. Posteriormente a este tiempo, se disolvieron 500 µL de la solución generada en 24 mL de etanol al 98%. Se depositaron 20 µL de la muestra en una microplaca de 96 pocillos. Posteriormente, a cada pocillo de la microplaca se adicionaron 230 µL de la solución acuosa de ABTS, la microplaca se almacenó en oscuridad por 5 minutos. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro (Multiskan GO Microplate). Los resultados se expresaron en µm ET/g.

#### **5.2.3.2 Ensayo DPPH**

Cada muestra del producto de almendra (untable o dispersión) se mezcló 10 mL con 2.5 ml de agua destilada y se mantuvo en un baño de agua a 45 °C durante 10 minutos. Posteriormente, el pH de la mezcla se ajustó a 4.0 utilizando HCl (0.1 mol/L) y se sometió nuevamente a incubación en baño María en las mismas condiciones por otros 10 minutos. Luego, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se neutralizó a pH 7.0 con NaOH (0.1 mol/L), seguido de una segunda centrifugación de 10 minutos. Finalmente, el sobrenadante se empleó para evaluar la capacidad de eliminación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

El protocolo que se siguió está descrito por Rivas-Vela *et al.* (2023) de la siguiente manera: Muestras de 20 µL diluidas en agua a distintas concentraciones fueron colocadas en una microplaca de 96 pocillos utilizando como blanco etanol. Después, se agregó DPPH (200 µL a 150 µM) a cada pocillo. La absorbancia se midió a 520 nm en un espectrofotómetro Multiskan GO Microplate. Los resultados se expresaron en µm ET/g.

#### **5.2.3.3 Ensayo FRAP**

Cada muestra del producto de almendra (untable o dispersión) se mezcló 10 mL con 2.5 mL de agua destilada y se mantuvo en un baño de agua a 45 °C durante 10 minutos. Posteriormente, el pH de la mezcla se ajustó a 4.0 utilizando HCl (0.1 mol/L) y se sometió nuevamente a incubación en baño maría en las mismas condiciones por otros 10 minutos. Luego, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se neutralizó a pH 7.0 con NaOH (0.1 mol/L), seguido de una segunda centrifugación de 10 minutos. Finalmente, el sobrenadante se empleó para evaluar el potencial antioxidante reductor férrico.

La capacidad antioxidante medida por la generación de color por la formación del complejo hierro ferroso-TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) fue determinada por la técnica descrita por Benzie & Strain (1996). Para ello se colocaron 20 µL de muestra en una placa y se adicionaron 175 µL de la solución FRAP, compuesta por tampón ácido acético- acetato de sodio (pH 3.6), TPTZ 10 mM y 20 mM FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 20mM. Como control en blanco se utilizaron 200 µL del solvente correspondiente a las muestras. Posteriormente, la placa se incubó a 37°C durante 15 minutos con agitación constante (15rpm). Finalmente, la absorbancia se midió a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro. La cuantificación se realizó empleando una curva de calibración de trolox en un rango de 50 a 800 µM.

Los resultados para los tres ensayos de capacidad antioxidante se expresaron en µm ET/g, según la fórmula especificada a continuación:

$$\mu\text{m ET/g} = \frac{(Cc) * (FD) * (V_{extracto})}{mm * 1000}$$

Donde

Cc= concentración obtenida a través de la curva de calibración

FD= factor de dilución

Ve= volumen de extracto obtenido

mm= masa de la muestra empleada para obtener el extracto

#### **5.2.4 Evaluación de la estabilidad física**

Se evaluó la sinéresis en las muestras correspondientes a los diferentes tratamientos ultrasonificados. Para ello, se colocaron 25 mL de la dispersión de almendra en probetas de vidrio almacenándose a 4°C y al paso de tres semanas de almacenamiento, se realizó una cuantificación del volumen del precipitado (si lo presentaba) y se hizo el cálculo de la separación medido en porcentaje

(volumen/volumen). Los resultados se expresaron en porcentaje (%) de separación de fases, según la fórmula especificada a continuación.

$$\% \text{ Sineresis} = \frac{(\text{Sobrenadante} * 100)}{\text{Volumen total}}$$

Donde

Sobrenadante= Capa de sobrenadante (Volumen en mL)

Volumen total= volumen total de la muestra (25 mL)

### 5.2.5 Preparación del producto untable de almendra

En la segunda etapa, se empleó únicamente el tratamiento de ultrasonido seleccionado. Para la formulación del prototipo untable de almendra se adicionó aceite de palma junto con una mezcla de hidrocoloides (goma de algarrobo y goma xantana) en las cantidades mostradas en el Cuadro 2, se evaluaron dos condiciones experimentales: fermentación con *L. casei* ATCC 334 en forma libre y fermentación con *L. casei* encapsulado.

**Cuadro 2.** Ingredientes de la formulación del producto untable de almendra

Ingrediente	Cantidad
Harina de almendra	25g
Agua destilada	75 mL
Goma de algarrobo	0.45 g
Goma xantana	0.19 g
Aceite de palma	1.04 g



## **5.2.6 Microencapsulación de *L.casei* y caracterización fisicoquímica de las capsulas obtenidas por secado por aspersión**

### **5.2.6.1 Activación de *L. casei***

El proceso para activar el cultivo de *L. casei* ATCC 334 previamente liofilizado implicó sucesivamente dos transferencias de caldo MRS en 3 mL en condiciones anaerobias a una temperatura de 37°C durante 24 horas. Una vez activada, la cepa de *Lactocaseibacillus casei* se inoculó en 100 mL de caldo MRS y se incubó a una temperatura de 37°C por 24 h. Luego, se centrifugó a 5,000 rpm durante 5 minutos y las bacterias pasaron por un proceso de lavado con solución salina al 0.1%.

### **5.2.6.2 Preparación de la cepa para su microencapsulación**

Una vez activa da la cepa de *L. casei* en caldo MRS tras 24 horas de incubación, se inoculó en caldo MRS estéril y se incubó a 37°C por 18 hrs para obtener una concentración de células en fase logarítmica tardía. Las células fueron recuperadas y centrifugadas a 1500 g por 15 min y lavadas dos veces con agua peptonada estéril a 0.1%. Después del lavado, se conservó el pellet de bacterias para ser incorporado en la suspensión de material encapsulante.

### **5.2.6.3 Proceso de microencapsulación de *L.casei* mediante secado por aspersión**

Se prepararon suspensiones de la cepa de *L. casei* al 10% p/p de sólidos de almidón fosfatado con inulina. Se incorporaron las bacterias probióticas en fase logarítmica tardía. Las suspensiones con los probióticos fueron alimentadas al secador por aspersión (marca Büchi Modelo B 290, Suiza) siguiendo el método descrito por Lipan et al. (2020). La velocidad de la bomba peristáltica fue de 10 rpm y un factor de fluidez de alimentación de 25 mL/min. La boquilla de atomización mide 0.7mm de diámetro. La temperatura de aire de entrada en el equipo de secado por aspersión fue de 160°C, aplicando una presión de aire comprimido de 0.8 MPa. El polvo resultante se almacenó en tubos esterilizados de plástico a 4 °C para los

análisis siguientes y para su inoculación en la formulación del producto untable de almendra.

#### **5.2.6.4 Determinación de viabilidad de *L.casei* después del proceso de secado por aspersión**

Se suspendieron por triplicado 0.5 g de cápsulas de cada material en tubos con 4.5 mL de diluyente de peptona al 0.1 %. Las suspensiones se agitaron en un vortex (Thermolyne, tipo 37600 Mixer), USA) a velocidad máxima durante 1 min. Para determinar la viabilidad de *L.casei* antes y después del secado por aspersión se realizó una siembra en placa por extensión se sembraron en agar MRS-V (MRS suplementado con vancomicina a una concentración de 5mg/L). Después, las placas de Petri se incubaron a 37°C en condiciones aeróbicas durante dos días. Se evaluó la viabilidad del probiótico después de un día de su elaboración, así como durante su almacenamiento durante 21 días (una vez por semana). Los resultados se expresaron en Log<sub>10</sub> UFC/mL.

#### **5.2.6.5 Determinación del contenido de humedad en las microcápsulas**

El contenido de humedad de las microcápsulas se determinó gravimétricamente mediante secado en estufa con circulación forzada a 105°C durante 2 horas.

#### **5.2.6.6 Determinación la actividad de agua en las microcápsulas**

La actividad de agua de las microcápsulas de *L. casei* se determinó utilizando un medidor portátil de actividad de agua Pawkit (Decagon Devices, EE. UU.). Se pesaron 0.5 g de muestra de microcápsulas en cada medición y se colocaron en el compartimiento del equipo, asegurando el cierre hermético de la cámara de lectura. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada tratamiento, registrándose los valores una vez alcanzada la estabilidad indicada por el instrumento.

## **5.2.7 Fermentación del producto untable de almendra**

### **5.2.7.1 Inoculación en el producto untable de almendra de *L. casei* en su forma libre y encapsulada**

Para el tratamiento de células en su forma libre, el pellet de bacterias rescatadas descritas en el punto 5.2.7.1 se transfirieron a la formulación del producto untable de almendra ultrasonicada en frasco de vidrio estéril de 100 mL de manera individual, para alcanzar una concentración aproximada de  $1 \times 10^9$  UFC/g en la muestra control.

Para el tratamiento de las células en su forma microencapsulada, se adicionó 1 g de microcápsulas a una concentración de  $8.5 \log_{10}$  UFC/g en otro frasco con la formulación de almendra previamente ultrasonicado, para alcanzar una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/g.

Para ambos tratamientos se adicionó el 3% de un cultivo láctico iniciador para yogurt YO-PROX 753 (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*), previamente activado de la misma manera en que se describe en el punto 5.2.6.1. El producto untable de almendra se incubó hasta alcanzar una acidez de 5.0.

### **5.2.7.2 Viabilidad de *L. casei* libre y encapsulado en el producto untable de almendra durante almacenamiento**

Para realizar el conteo de microorganismos, se tomó 1 g de muestra de cada envase de vidrio con el producto untable fermentado de almendra (en su forma libre y encapsulada) y se hicieron diluciones decimales en solución de peptona de caseína en tubos de ensayo. Utilizando la siembra en placa por extensión se sembraron en agar MRS-V (MRS suplementado con vancomicina a una concentración de 5mg/L). Después, las placas de Petri se incubaron a 37°C en condiciones aeróbicas durante dos días. Se evaluó la viabilidad del probiótico después de un día de su elaboración,

así como durante su almacenamiento durante 21 días (una vez por semana). Los resultados se expresaron en Log<sub>10</sub> UFC/mL.

## **5.2.8 Determinación de las propiedades físicoquímicas del producto untable**

### **5.2.8.1 Determinación de pH y la acidez titulable**

Se determinó el pH y la acidez titulable a muestras de 10 mL del producto untable fermentado de almendra. La medición de porcentaje de acidez se realizó por medio de una titulación usando como indicador la fenolftaleína (0.3mL) y como titulante el hidróxido de sodio (0.1 N), siguiendo el protocolo de la NOM-185-SSA1-2002. Los resultados se expresaron en porcentaje (%) de acidez, según la fórmula especificada a continuación.

$$Acidez\ total = \frac{(N) (V) (9)}{P}$$

Donde

V = mililitros de la solución de NaOH, gastados en la titulación de la muestra

9 = equivalentes de NaOH

N = Normalidad de la solución hidróxido de sodio utilizada en la titulación de la muestra

P = Masa en gramos (g) de la muestra

### **5.2.9 Capacidad antioxidante del producto untable de almendra fermentado**

Se utilizaron los protocolos empleados para la determinación de la capacidad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) ya fueron descritos previamente en los puntos 5.2.3.1, 5.2.3.2 y 5.2.3.3, respectivamente. Dichas metodologías se aplicaron sin modificaciones, dirigidas a la evaluación de los dos tratamientos del producto untable de almendra fermentado con *L. casei* (forma libre y encapsulada).

### 5.2.10 Estabilidad en la simulación *in-vitro* del tracto gastrointestinal (TGI)

A los 21 días de almacenamiento, se llevó a cabo una evaluación *in vitro* para determinar los probióticos y su sobrevivencia en el producto untado de almendra fermentado, utilizando condiciones simuladas TGI, siguiendo la metodología descrita por De Palencia et al. (2008).

Para simular las diluciones *in vivo*, se preparó una solución de saliva artificial (3mL) descrita en el Cuadro 3, la cual se ajustó el pH a 6.5. A 3 mL de muestra se adicionaron 3 mL de saliva artificial y se mezclaron a 200 rpm durante 2 minutos a 37°C en un vortex.

**Cuadro 3.** Formulación de diluciones digestivas simuladas

Saliva artificial		Jugo gástrico		Jugo intestinal	
2.20 g	Cloruro de Potasio	0.30 %	Pepsina porcina	0.10 % 0.45 %	Pancreatina Sales biliares
6.20 g	Cloruro de Sodio				
1.20 g	Bicarbonato de				
0.22 g	Sodio				
3,000 U/MI	Cloruro de Calcio $\alpha$ -amilasa				

Para la fase gástrica, a la muestra anterior se agregaron 24 mL de jugo gástrico simulado (0.3 % de pepsina porcina) a un pH de 5.0. Posteriormente, el pH de las muestras se redujo a 4.1, 3.0, 2.1 y 1.8 con ácido clorhídrico. Para simular el vaciamiento gástrico normal se recogieron alícuotas de la suspensión tras incubaciones sucesivas de 20 min a 37°C a cada pH. El conteo de los microorganismos probióticos se determinó al haber completado el tiempo determinado en cada pH ajustado.

Para simular el estrés intestinal, la muestra se ajustó a un pH de 5.0 con  $\text{NaHCO}_3$  1M y se incubó por 30 min a 37°C. Posteriormente se adicionaron 10 mL de una solución simulada de jugo intestinal que contenía 0.45% de sales biliares y 0.1% de pancreatina en solución salina estéril al 0.5% (ajustada a pH 8.0). El pH fue ajustado a 6.5 y la muestra fue incubada por 30 min. Finalmente, el pH fue ajustado a 8.0 y la mezcla fue incubada por 60 min más a la misma temperatura.

#### **5.2.11 Propiedades fisicoquímicas y estructurales del producto untable de almendra**

##### **5.2.11.1 Análisis bromatológicos**

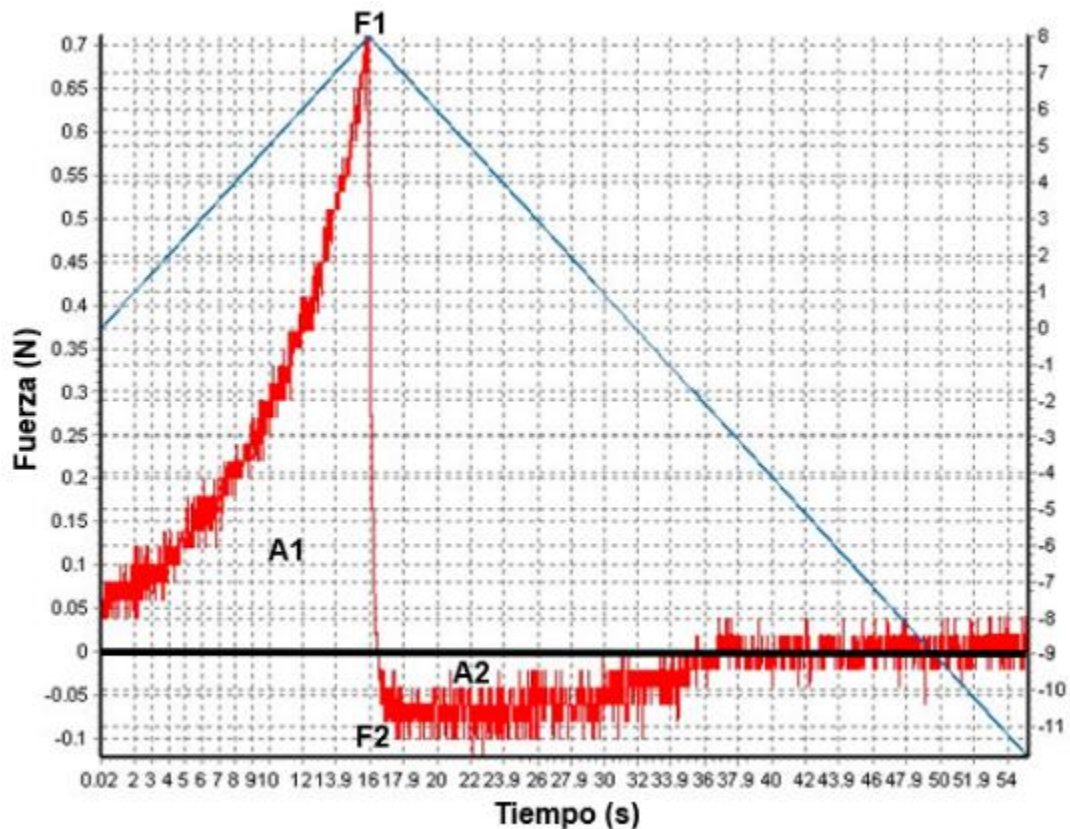
El análisis bromatológico se realizó siguiendo la metodología descrita por la AOAC (2002). Que incluye determinación de humedad (Método 925.09B), proteínas (Método 954.01), cenizas (Método 923.03), en tanto que carbohidratos se determinó por diferencia de los componentes.

##### **5.2.11.2 Textura**

La determinación de la firmeza se realizó mediante un ensayo de compresión siguiendo la metodología descrita por Bayarri et al. (2012), utilizando un Texturómetro CT3™ Texture Analyzer (Brookfield CT3) equipado con una sonda cónica (TA3/100), compuesta por un par de conos macho y hembra de plexiglás con un ángulo de 45°, perfectamente acoplados. Las muestras del producto untable de almendra previamente refrigeradas a 4°C, se colocaron en el cono hembra procurando eliminar las burbujas de aire mediante una ligera presión con espátula y nivelando la superficie para obtener una muestra uniforme.

Durante la prueba, el cono macho penetró la muestra a una velocidad de 2,0 mm/s hasta alcanzar una profundidad de 8mm, generando la compresión del producto entre ambos conos. Posteriormente, el cono fue retirado, registrándose las curvas fuerza-tiempo obtenidas. La fuerza (N) registrada en la máxima profundidad de

penetración (F1) se considera como la firmeza de la muestra. El área bajo la curva positiva (A1, mJ) representó la capacidad de propagación (considerada como el parámetro de untabilidad en productos similares a quesos crema). Valores menores de A1 se asocian con una mayor capacidad de untar. Por otra parte, el pico negativo máximo de fuerza (N) indica la adhesividad del producto, el área bajo dicha curva (A2, mJ), correspondió al trabajo de adhesividad. Un ejemplo de estos valores se muestra en la Figura 3.



**Figura 3.** Curva de untabilidad “fuerza-tiempo”. Adaptado de (Bayarri et al., 2012).  
**A1=** Capacidad de propagación (untabilidad); **F1=** Firmeza; **F2=** Pegajosidad;  
**A2=** Adhesividad.

#### **5.2.11.3 Mediciones reológicas**

Las propiedades viscoelásticas del producto untable se evaluaron mediante un reómetro rotacional (Anton Para Physica Modelo MCR1-101, Australia) equipado con una geometría de placas paralelas de 50 mm de diámetro y 1 mm de espacio entre ellas. Las muestras se colocaron cuidadosamente para evitar la incorporación de aire y se dejaron reposar en la placa durante 3 min después de haber estado en refrigeración a 5°C. Se realizó un barrido de deformación a una frecuencia constante (1 Hz) para determinar el límite viscoelástico lineal, seleccionándose un valor de deformación del 0,1 % para las mediciones posteriores. Utilizando esta deformación, se realizó un barrido de frecuencia de 0,1 a 30 Hz para determinar los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y pérdida ( $G''$ ), así como el comportamiento viscoelástico dependiente de la frecuencia, modificando la metodología utilizada por Shiroodi et al. (2012).

#### **5.2.11.4 Electroforesis**

Las muestras del producto untable se analizaron en una cámara vertical SE250 Mighty Small Mini, siguiendo el método descrito por Laemmli (1970). Las muestras se prepararon disolviendo 0.1 g del producto untable de almendra en 19 mL de agua destilada, obteniendo una concentración de 1 mg/mL. Posteriormente se tomaron 50  $\mu$ L de la solución y se mezclaron con igual volumen de tampón (Tris/HCl 20 mM, EDTA 2 mM pH 8.0, SDS al 5 % (p/v), 0.016 % (p/v) de DTT, 0.02% de azul de coomassie), después las muestras se calentaron a 95°C durante 5 min y se centrifugaron durante 2 min a 3000 g antes de correrlas en el gel. Se adquirieron proteínas estándar de 10-250 kDa como patrón de referencia.

#### **5.2.11.5 Metabolitos de bajo peso molecular**

La determinación de metabolitos de bajo peso molecular se efectuó a dos muestras (el producto untable ultrasonificado sin fermentar y el producto ultrasonificado-fermentado), se empleó un sistema de cromatografía de gases acoplado a



espectrometría de masas (GC-MS) Agilent 7890A (Wilmington, DE, EE.UU.), equipado con un detector de masas de simple cuádruplo modelo 5975C. Se analizaron 100 mg de muestras previamente liofilizadas. La ionización se realizó por impacto electrónico a 70 eV, registrando un rango de masas entre 50 y 700 m/z. La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna capilar HP-5MS (30m x 0.25mm x 0.25um) con un inyector Split de 2mm de diámetro, operando en modo splitless durante 2.5 min. El control instrumental y el procesamiento de los datos se realizaron mediante el software ChemStation (Agilent Technologies) (Aguado Rivera, 2025).

#### **5.2.12 Diseño y análisis estadísticos**

Se estructuró en dos fases. En una primera etapa, la experimentación con ultrasonido se realizó con un diseño bifactorial completamente aleatorizado con dos factores de amplitud (80%, 40%) y con dos niveles de tiempo (5 min, 10min). La potencia (500 W) y frecuencia (20kHz) se mantuvieron constantes. Los tratamientos de ultrasonido fueron comparados en función de su capacidad antioxidante y su comportamiento de sinéresis, seleccionando aquel que presentó la mejor respuesta.

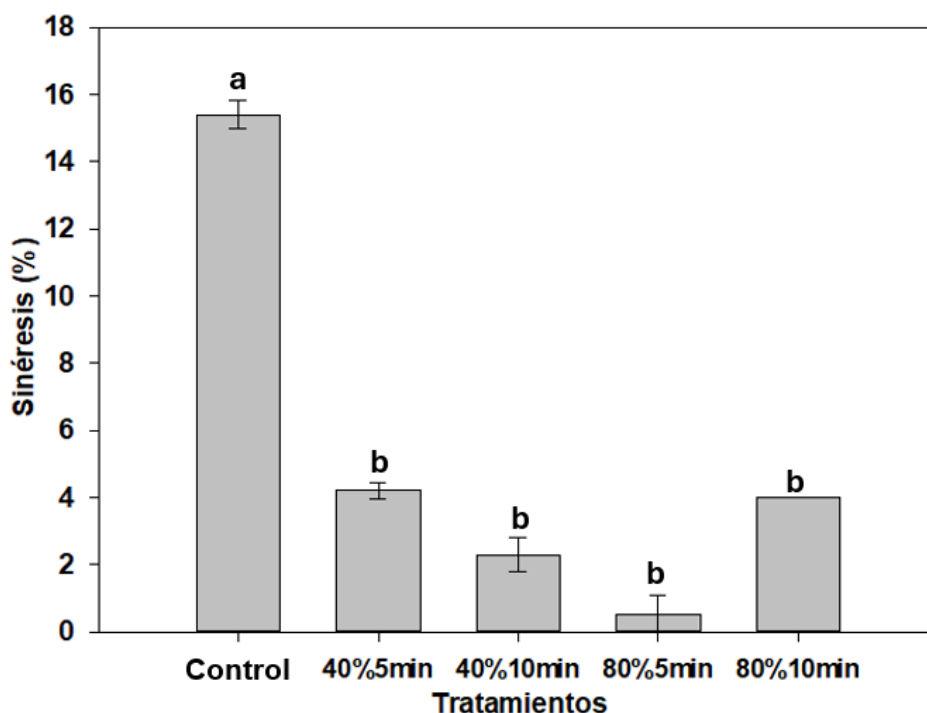
Posteriormente, en la segunda etapa, se empleó únicamente el tratamiento de ultrasonido seleccionado. En esta fase se realizó la comparación de medias entre dos tratamientos: adición de *L. casei* en su forma libre y la adición de *L. casei* en su forma encapsulada al producto untable de almendra. Los datos del experimento se analizaron con varianzas constantes y normalidad, mediante un análisis de varianza utilizando el software Rstudio (Versión 4.2.1). Se utilizó prueba de Tukey para la comparación de medias entre las muestras.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.1. Evaluación de ultrasonido en las dispersiones de almendra**

#### **6.1.1. Evaluación de sinéresis**

En la figura 4 se presentan los resultados del tratamiento control (sin aplicación de ultrasonido) y los tratamientos evaluados. Se observa que el tratamiento control presentó el valor más alto de sinéresis ( $15.4 \pm 0.42 \%$ ), comparado con los tratamientos que en todos los casos presentaron valores menores al 4%, lo cual indica reducciones significativas ( $p > 0.05$ ) en el porcentaje de sinéresis, y se puede interpretar como una menor estabilidad del producto y una red estructural menos eficiente para retener agua. Los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre ellos, con valores que oscilaron entre 0.5% a 4.2%. Estos resultados indican que la aplicación de ultrasonido favoreció la formación de una matriz más estable, posiblemente debido a la desintegración parcial de partículas y mayor homogenización de los componentes durante el procesamiento, lo que a su vez pudo mejorar la interacción entre macromoléculas (proteínas y polisacáridos) presentes en la harina de almendra. Estudios previos han reportado efectos similares en bebidas de almendra alternativas a la leche procesadas con ultrasonido, atribuyendo la reducción de sinéresis en la formación de redes coloidales más densas y con mayor capacidad de retención de agua (Ibrahim et al. 2011).

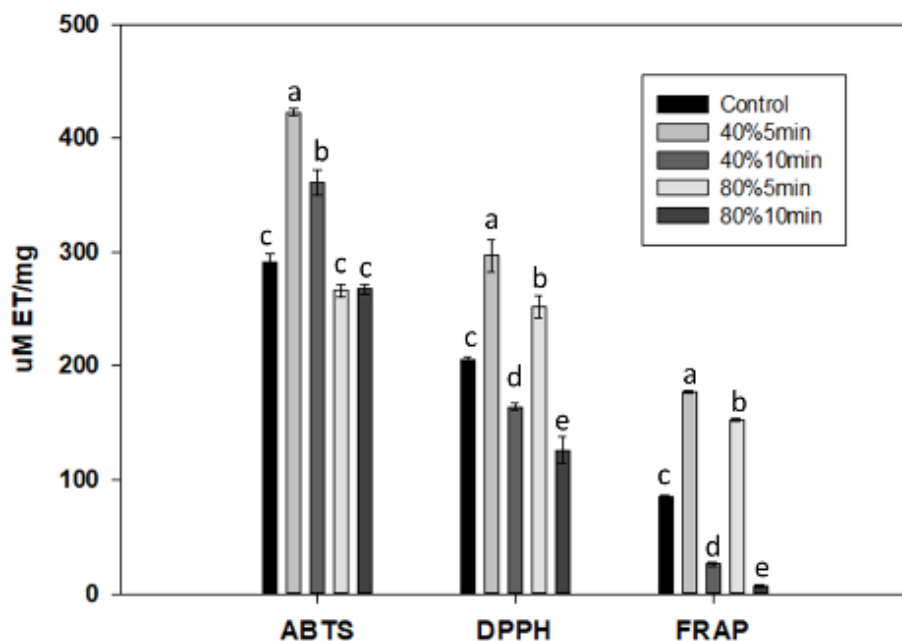


**Figura 4.** Sinéresis de la dispersión de almendra bajo distintas condiciones del tratamiento ultrasónico. Los resultados se muestran como media  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey.

#### 6.1.2. Evaluación de capacidad antioxidante y reductora de hierro

Para evaluar la capacidad antioxidante de la dispersión de almendra, se realizaron los ensayos de ABTS, DPPH y FRAP. En la Figura 5 se muestra el efecto de distintos tratamientos de ultrasonido, variando la amplitud (40% y 80%) y el tiempo de exposición (5 min y 10 min). En general se observó que la aplicación de ultrasonido generó cambios significativos ( $p < 0.05$ ) en la actividad antioxidante, en comparación con la muestra control (sin tratamiento), obteniendo distintos resultados en cada ensayo debido a que presentan mecanismos de acción diferentes: el método de FRAP se fundamenta principalmente en la transferencia de un solo electrón, mientras que el método de DPPH y ABTS involucran tanto la transferencia de electrones como de átomos de hidrógeno (Tan & Lim, 2015).

Asimismo, el ensayo DPPH permite evaluar compuestos antioxidantes hidrofílicos y el ABTS puede medir antioxidantes hidrofílicos como hidrofóbicos (Pietta et al., 2000).



**Figura 5.** Capacidad antioxidante de la dispersión de almendra (mezcla de agua y harina de almendra). Expresada como  $\mu\text{M ET/mg}$  en el eje “Y”, y los diferentes tratamientos evaluados en el eje “X”. Los valores se presentan como media  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey.

En el ensayo ABTS, el tratamiento de 40 % de amplitud durante 5 min presentó la mayor capacidad antioxidante de 440  $\mu\text{M ET/mg}$ , siendo significativamente superior a los demás tratamientos. Este resultado puede atribuirse a la cavitación acústica inducida por el ultrasonido, la cual promueve la ruptura de paredes celulares y la liberación de compuestos fenólicos solubles, responsables de la neutralización de radicales libres (Da Silva Mendonça et al., 2022). A su vez, el tratamiento de 40 % por 10 min también mostró un aumento significativo, aunque ligeramente inferior. En contraste, los tratamientos con mayor tiempo y amplitud combinados (80%-5

min, 80%-10 min) no mejoraron la capacidad antioxidante, siendo estadísticamente iguales, pero con valores menores a la amplitud pequeña (40%), lo cual sugiere un posible efecto degradativo por sobreexposición a la energía ultrasónica, lo que ha sido reportado anteriormente en matrices alimentarias vegetales en comparativa entre amplitudes de 40% y 80% (Kaveh et al., 2023).

Respecto al ensayo DPPH, se observó una tendencia similar, donde nuevamente el tratamiento de 40%-5min mostró la mayor actividad antioxidante (252.14  $\mu\text{M ET/mg}$ ), significativamente diferente del resto de los tratamientos. En cambio, el tratamiento 80%-10min mostró una disminución significativa de actividad, en este sentido Manzoor et al. (2021) reportan que durante el procesamiento de ultrasonido, una menor formación de radicales hidroxilos libres favorece la actividad antioxidante. Sin embargo, tiempos prolongados de exposición al ultrasonido (10 min), pueden reducir la capacidad antioxidante de las matrices alimentarias en comparación con tiempos más cortos, debido a que la cavitación excesiva genera radicales libres y degradación parcial de compuestos fenólicos y bioactivos, mientras que exposiciones más breves favorecen su liberación sin afectar su estabilidad química.

En el caso del ensayo FRAP, que mide la capacidad reductora de hierro férrico, el tratamiento 40%-5 min resultó ser el más efectivo (177.04  $\mu\text{M ET/mg}$ ), al igual que en los ensayos previos, lo que sugiere que una amplitud moderada de ultrasonido puede ser más eficiente para preservar o liberar compuestos con capacidad reductora. Es notable que los tratamientos de 80%, especialmente a 10 min, presentaron una reducción significativa de esta capacidad; de manera similar, Manzoor et al. (2021) reportaron que la capacidad fue menor cuando se aplicaron tiempos y temperaturas ultrasónicas elevados, mientras que resultó mayor en condiciones más bajas de estos parámetros.

En conjunto, estos resultados evidencian que el efecto de la ultrasonificación sobre la capacidad antioxidante es dependiente de la amplitud y el tiempo de la aplicación. Además, niveles moderados de energía pueden potenciar la actividad antioxidante de la dispersión de almendra al favorecer la liberación de antioxidantes sin provocar su degradación. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por autores como Özcan et al. (2021) quienes observaron mejoras similares en matrices vegetales tratadas con ultrasonido con una amplitud no mayor a 60%.

Para la elección del tratamiento, aunque los diferentes tratamientos de ultrasonido no mostraron diferencias significativas entre sí en cuanto al porcentaje de sinéresis, todos presentaron una disminución notable respecto al control, lo que confirma lo positivo de la ultrasonificación en la estabilidad de la dispersión de almendra al reducir la liberación de suero después de 21 días. Sin embargo, la elección del tratamiento óptimo se basó principalmente en los resultados de los ensayos de capacidad antioxidante. En este sentido, el tratamiento de 40% de amplitud durante 5 minutos se destacó por promover los valores más altos de capacidad antioxidante en los tres ensayos, en comparación con los demás tratamientos, sugiriendo que esta combinación de amplitud y tiempo favoreció la liberación o activación de compuestos bioactivos sin comprometer la estructura del sistema. Por ello, se seleccionó este tratamiento.

## **6.2. Microencapsulación de *L. casei* obtenido mediante por secado por aspersión**

### **6.2.1. Rendimiento de encapsulación**

Como se muestra en el Cuadro 4, se obtuvo un rendimiento del  $65.5 \pm 3.5$  %, utilizando como material de pared una mezcla de 90% de almidón alto en amilosa fosfatado y 10% de inulina como matriz encapsulante. Este valor es comparable con lo reportado por Bradford et al. (2019). Se realizó una inspección de la cámara de secado por aspersión después del proceso donde se reveló la presencia de polvo

adherido a las paredes y al recipiente colector, lo que indica fenómenos de pegajosidad asociados a la formulación utilizada. Este comportamiento puede explicarse por la proximidad de la temperatura de salida del secado a la temperatura de transición vítrea de la mezcla de encapsulación.

**Cuadro 4.** Rendimiento, actividad de agua y humedad del probiótico *L. casei* microencapsulado

Muestra	Rendimiento (%)	a <sub>w</sub>	Humedad (%)
<b><i>L. casei</i> ATCC 334 microencapsulado en almidón fosfatado e inulina</b>	65.5 ± 3.50	0.34 ± 0.00	7.72 ± 0.39

Datos expresados como media ± DE (n=3).

#### 6.2.2. Humedad y actividad de agua

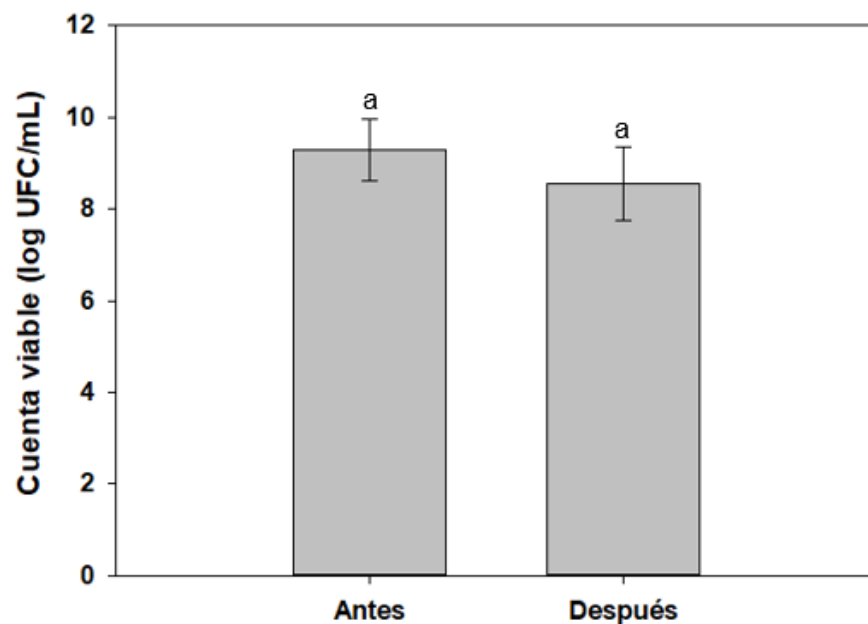
En cuanto a la actividad de agua, el valor obtenido  $0.34 \pm 0.00$  indica una alta estabilidad microbiológica y una reducida velocidad de reacciones de deterioro, especialmente oxidativas. Este rango es considerado ideal para probióticos encapsulados, ya que limita el crecimiento microbiano y prolonga la viabilidad celular durante el almacenamiento (Arepally & Goswami, 2018). La presencia de inulina, un prebiótico higroscópico, el almidón fosfatado, con capacidad de formar películas protectoras, favorecen la formación de una matriz densa que limita la movilidad de agua, contribuyendo a sus valores bajos de actividad de agua (Homayouni-Rad et al., 2021).

Por otra parte, el contenido de humedad del polvo con probióticos disminuye con el aumento de la temperatura del aire de entrada (160°C) (Arepally et al., 2020). La humedad obtenida de las microcápsulas (7.72 %) se encuentra dentro del intervalo óptimo (<6 %) recomendado para *Lactobacillus* en matrices encapsulantes como almidón modificado (Arepally et al., 2020). Niveles elevados de humedad pueden

favorecer la activación metabólica de las bacterias y disminuir su viabilidad, mientras que humedades excesivamente bajas pueden generar estrés ósmico y daño estructural en la membrana celular durante el secado (Homayouni-Rad et al., 2021).

### 6.3. Viabilidad antes y después de la encapsulación mediante secado por aspersión

En la figura 6 observamos que la suspensión inicial sometida al secado por aspersión contaba con  $9.2 \log_{10}$  UFC/mL, mientras que el producto recuperado (seco) alcanzó  $8.5 \log_{10}$  UFC/mL, indicando una pérdida de viabilidad de aproximadamente  $0.7 \log_{10}$  UFC/mL tras el secado. Esta reducción de viabilidad es consistente con muchos estudios, donde pérdidas entre  $0.5$  y  $1.0 \log_{10}$  UFC/mL suelen considerarse aceptables en procesos de secado por aspersión, dadas las condiciones térmicas y osmóticas implicadas (Liu et al., 2015).



**Figura 6.** Viabilidad de *L. casei* antes y después de la microencapsulación mediante secado por aspersión. Los valores se presentan como media  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey.

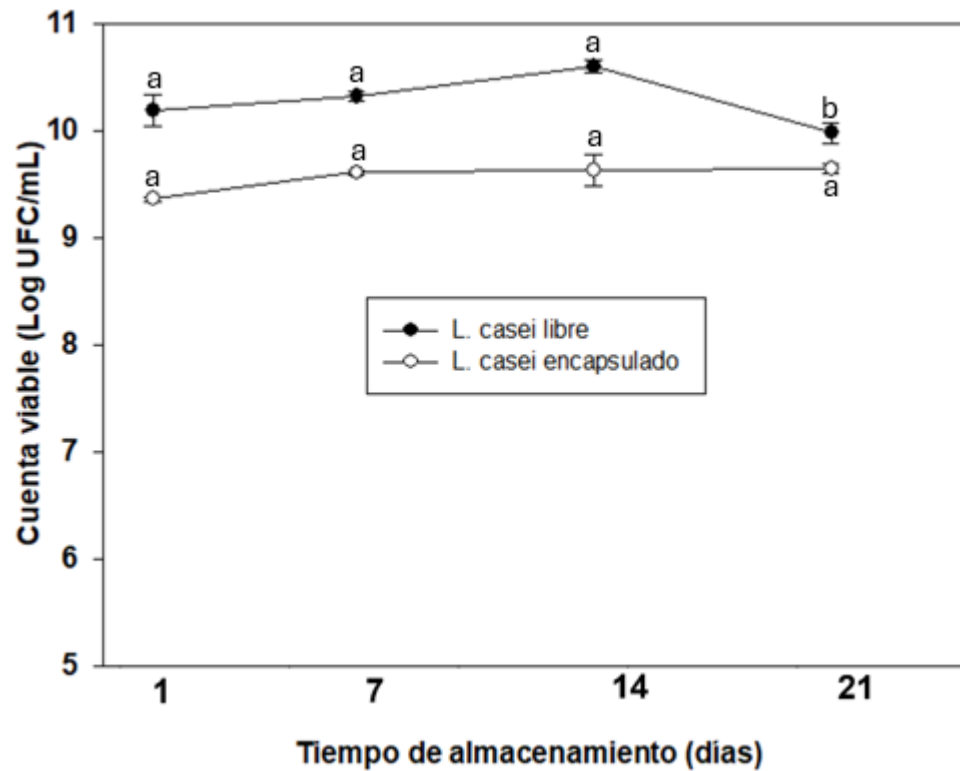


La combinación de almidón fosfatado, que forma una película protectora y ofrece soporte estructural, junto con inulina, que funciona como agente crioprotector y prebiótico, parece haber contribuido a mitigar el estrés térmico y de deshidratación, favoreciendo la supervivencia celular.

Russo et al. (2021) reportaron el uso de mezclas de alginato, inulina y maltodextrina como matrices protectoras para diversas cepas de *Lactobacillus*, observando una buena viabilidad tras el secado y una mejor estabilidad en almacenamiento y tránsito gastrointestinal. Aunque su matriz no incluía almidón fosfatado específicamente, demuestra el efecto positivo de los polisacáridos y prebióticos solubles como la inulina. García-Tejeda et al. (2015) refieren que los grupos fosfato introducidos en la molécula de almidón aumentan su capacidad para formar una matriz más densa y flexible, lo que reduce el daño celular por calor, oxidación y desecación en el proceso de secado por aspersión.

#### **6.4. Evaluación de la viabilidad de *L. casei* libre y encapsulado en el producto untable de almendra durante almacenamiento**

La figura 7 muestra la evolución de la viabilidad de *L. casei* en el producto untable de sólidos de almendra, tanto en su forma libre como microencapsulada, a lo largo de 21 días de almacenamiento en refrigeración. En ambos casos, los recuentos iniciales fueron superiores a 9 Log<sub>10</sub> UFC/mL, lo cual cumple con el nivel mínimo recomendado para que un alimento pueda considerarse probiótico (>6 Log<sub>10</sub> UFC/mL) (Banwo et al., 2024).



**Figura 7.** Viabilidad de *L. casei* libre y encapsulado durante el almacenamiento del producto untado fermentado de almendra. Los valores se presentan como media  $\pm$  DE (n = 3).

El recuento de células libres de *L. casei* se mantuvo estable durante las dos primeras semanas, alcanzando un valor máximo de 10.59 Log<sub>10</sub> UFC/mL en el día 14. Sin embargo, hacia el día 21 se observó una ligera disminución (9.97 Log<sub>10</sub> UFC/mL), aunque sin comprometer la viabilidad mínima requerida. Por otro lado, el tratamiento con *L. casei* encapsulado mostró valores consistentemente menores respecto a las células libres (9.41 Log<sub>10</sub> UFC/mL) que se deben al inóculo inicial, pero con una mayor estabilidad durante todo el almacenamiento, sin disminuciones marcadas al final del periodo.

La diferencia entre ambos tratamientos podría atribuirse a la protección conferida por la microencapsulación. El uso combinado de almidón fosfatado e inulina pudo

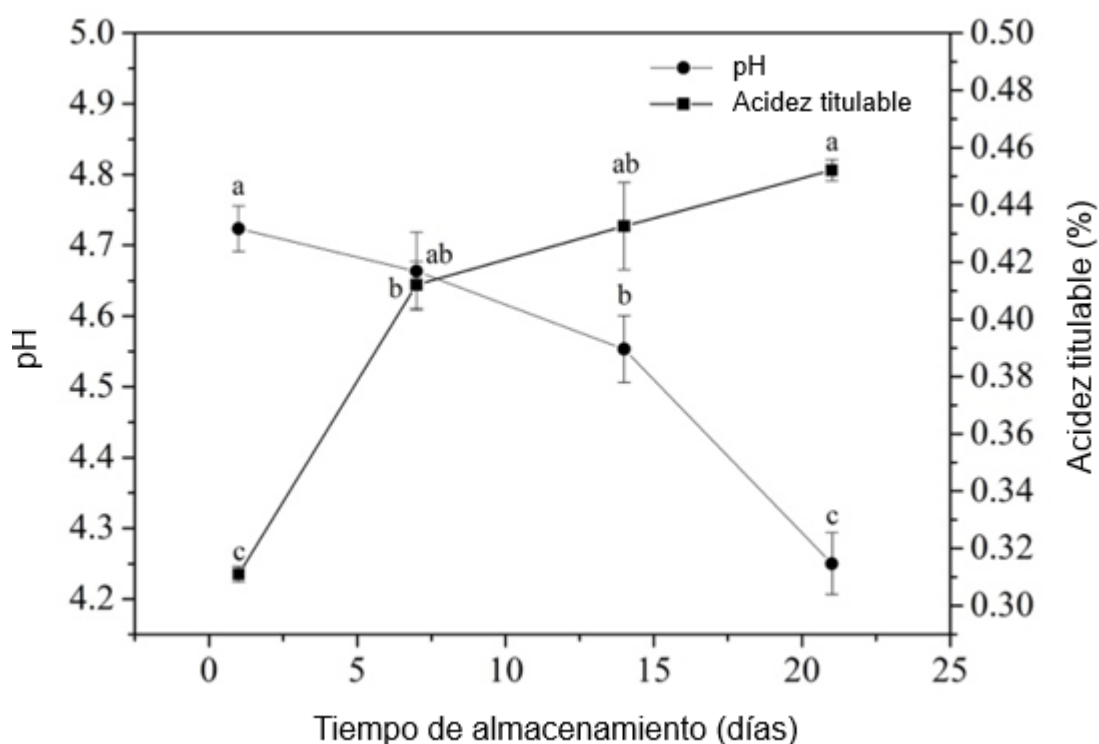
generar una matriz que redujo el estrés ambiental (pH, oxígeno, actividad de agua) durante el almacenamiento en refrigeración, favoreciendo la supervivencia celular. Estos resultados concuerdan con reportes previos en matrices vegetales y lácteas fermentadas, donde la encapsulación con prebióticos como inulina prolongó la viabilidad probiótica frente a células libres (Chavarri et al., 2012).

Ambos tratamientos mantuvieron una concentración adecuada de bacterias viables durante 21 días de estudio, lo cual asegura el potencial funcional del producto untable fermentado. Sin embargo, la encapsulación aportó una ventaja tecnológica al estabilizar la población probiótica en el tiempo, sugiriendo que esta estrategia podría ser clave para prolongar la vida útil del producto y garantizar su efecto benéfico (Mondragón *et al.*, 2024).

## **6.5 Cambios fisicoquímicos y funcionales del producto untable a base de almendra durante almacenamiento**

### **6.5.1 pH y acidez titulable**

Los resultados de pH (figura 8A) y acidez titulable (figura 8B) muestran la evolución de la fermentación y estabilidad del producto untable de almendra con *L. casei* en forma libre y encapsulada durante 21 días de almacenamiento en refrigeración (4°C ±1). En ambos tratamientos, el pH inicial se mantuvo en 4.8, consistente con un producto fermentado (Zahrani & Shori, 2023). Sin embargo, a lo largo del almacenamiento se observaron tendencias divergentes. El producto untable inoculado con *L. casei* libre presentó una disminución significativa del pH hasta alcanzar valores cercanos a 3.8 al día 21, mientras que el tratamiento con células encapsuladas mostró un descenso más moderado, manteniéndose alrededor de 4.3.



**Figura 8.** pH y acidez titulable del producto untable fermentado con *L.casei* durante su almacenamiento. Los valores se presentan como media  $\pm$  DE ( $n = 3$ ). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey.

De manera complementaria la acidez titulable evidenció un incremento progresivo durante el almacenamiento. En el caso de las células en su forma libre, la acidez aumentó desde 0.46% (día 1) hasta 0.90% (día 21), mientras que con el probiótico encapsulado el aumento fue menos pronunciado, alcanzando únicamente 0.45% al final del periodo. Estos resultados confirman que la microencapsulación limitó la producción de ácidos orgánicos, tal como también reportan Reque y Brandelli (2021); esto debido a la difusión restringida de nutrientes y metabolitos a través de la matriz encapsulante. Estos hallazgos son congruentes con reportes en productos a base de vegetales fermentados alternativos a los lácteos, donde la microencapsulación de probióticos no solo mejora la supervivencia celular, sino que también modula la intensidad de acidificación durante la vida útil del alimento

(Rodrigues et al., 2020). Esto representa una ventaja tecnológica, ya que una acidificación excesiva podría comprometer la aceptabilidad sensorial del producto, mientras que una regulación más suave asegura tanto la funcionalidad probiótica como la estabilidad organoléptica (Agriopoulou et al., 2023).

### 6.5.2. Capacidad antioxidante (FRAP, ABTS, DPPH)

El Cuadro 5 presenta los valores de capacidad antioxidante mediante los ensayos ABTS, DPPH y FRAP en el producto untable de almendra fermentado con *L. casei* en forma libre y microencapsulado durante 21 días de almacenamiento en refrigeración (4°C). En general, se observó un incremento progresivo de la capacidad antioxidante en ambos tratamientos a lo largo del almacenamiento, aunque con diferencias en la magnitud de los cambios según el método empleado.

El aumento de la capacidad antioxidante puede atribuirse a la acción del ultrasonido que favorece el contenido de péptidos y proteínas solubles, que en conjunto con la fermentación contribuye a la producción de metabolitos antioxidantes y la biotransformación de compuestos en formas más activas, concluyendo que el procesamiento ultrasónico en sinergia con la fermentación potencia la capacidad antioxidante de los productos (Xie et al., 2023).

**Cuadro 5.** Capacidad antioxidante del producto fermentado untable durante su almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (días)				
Muestra con <i>L. casei</i>	1	7	14	21
<b>ABTS (µm ET/g)</b>				
<b>Libre</b>	463.56 ± 0.82 <sup>Ad</sup>	480.56 ± 1.20 <sup>Ac</sup>	495.14 ± 0.56 <sup>Ab</sup>	511.58 ± 0.88 <sup>Aa</sup>
<b>Encapsulado</b>	439.66 ± 0.43 <sup>Bd</sup>	465.92 ± 1.18 <sup>Bc</sup>	482.82 ± 0.76 <sup>Bb</sup>	494.08 ± 0.78 <sup>Ba</sup>
<b>DPPH (µm ET/g)</b>				
<b>Libre</b>	747.97 ± 0.74 <sup>Ad</sup>	776.20 ± 0.41 <sup>Ac</sup>	789.85 ± 0.39 <sup>Ab</sup>	802.77 ± 1.36 <sup>Aa</sup>
<b>Encapsulado</b>	712.35 ± 1.17 <sup>Bd</sup>	757.91 ± 0.41 <sup>Bc</sup>	770.20 ± 1.86 <sup>Bb</sup>	784.65 ± 0.37 <sup>Ba</sup>
<b>FRAP (µm ET/g)</b>				
<b>Libre</b>	266.61 ± 1.75 <sup>Ad</sup>	322.36 ± 0.14 <sup>Ac</sup>	383.67 ± 0.27 <sup>Ab</sup>	566.61 ± 1.75 <sup>Aa</sup>

<b>Encapsulado</b>	242.63 ± 0.64 <sup>Bd</sup>	279.35 ± 0.22 <sup>Bc</sup>	299.00 ± 0.26 <sup>Bb</sup>	428.77 ± 0.27 <sup>Ba</sup>
--------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Datos expresados como media ± DE (n=3). Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas a través del tiempo de almacenamiento (Tukey, p<0.05).

Para el ensayo ABTS, los valores iniciales oscilaron entre 439-464 µM ET/g y aumentaron de manera constante hasta el día 21, alcanzando 511 µM ET/g en el caso de las células libres y 494 µM ET/g para las encapsuladas. Estos valores superan lo reportado por La Torre et al. (2025) en una bebida de almendra sin fermentar ni ultrasonicar. El patrón sugiere que ambos tratamientos favorecieron la liberación de compuestos antioxidantes, asociados a la actividad enzimática del probiótico y a la degradación de estructuras fenólicas (Zahrani & Shori, 2023b) presentes en el producto untable fermentado de almendra.

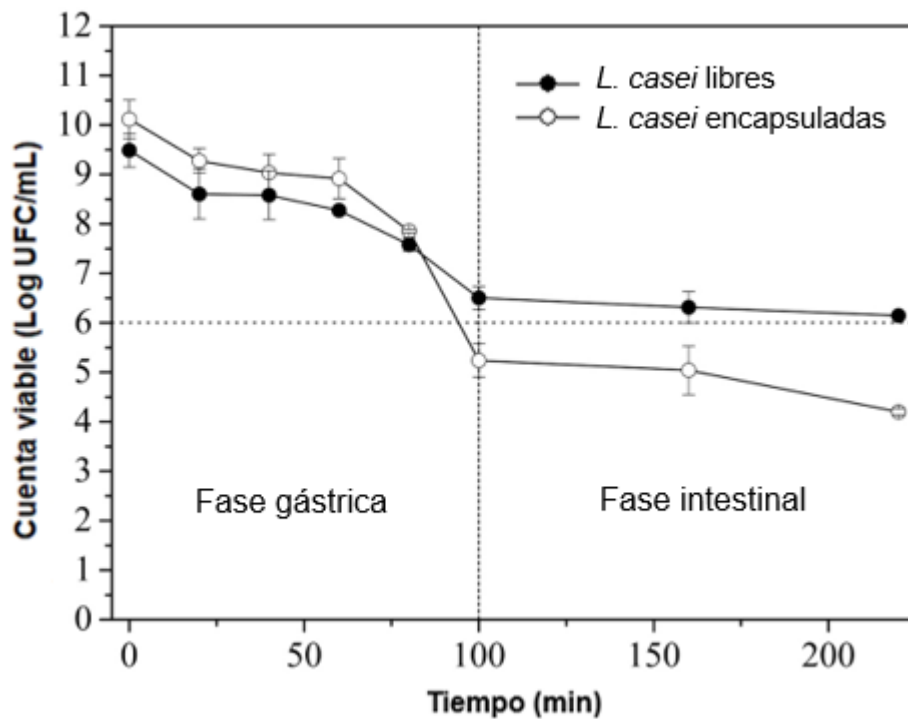
De forma similar, en el ensayo DPPH se observó un aumento significativo (p<0.05) desde 747 µM ET/g el día 1 hasta 802 µM ET/g en el día 21 para el tratamiento de células libres. El tratamiento con *L. casei* encapsulado mostró valores ligeramente menores, pero con una tendencia ascendente comparable (712 µM ET/g a 784 µM ET/mL). Estos resultados refuerzan la relación entre metabolismo probiótico y generación de metabolitos antioxidantes, como péptidos bioactivos y ácidos orgánicos, durante la fermentación y almacenamiento, coincidiendo con Zahrani y Shori (2023) quienes reportaron que una bebida fermentada de almendra mostró un aumento en la inhibición de DPPH de aproximadamente el 95% en dos semanas de almacenamiento, demostrando que la dispersión de sólidos de almendra tienen una alta efectividad de quelación de iones metálicos debido a los polifenoles antioxidantes. El DPPH permite evaluar la capacidad de los compuestos para neutralizar radicales libres mediante la donación de un electrón o un radical hidroxilo (Shori et al., 2020).

El comportamiento más marcado se observó en el ensayo FRAP, el cual determina el potencial antioxidante al medir la reducción del ion férrico a ferroso por transferencia de electrones (Shori et al., 2020), donde los valores iniciales fueron relativamente bajos si se comparan con el ABTS y DPPH (266  $\mu\text{M}$  ET/mL para el tratamiento con células libres y 243  $\mu\text{M}$  ET/mL para el tratamiento con células encapsuladas), aumentando de forma sustancial hasta 566 y 429  $\mu\text{M}$  ET/mL, respectivamente al día 21. La Torre et al. (2025) reportaron valores de 98.96  $\mu\text{M}$  ET/mL para una dispersión de sólidos almendra sin tratamiento de ultrasonido ni fermentación. Aunque los valores fueron menores en el caso de *L. casei* encapsulado, la microencapsulación aporta una ventaja en términos de estabilidad y control de la liberación de compuestos antioxidantes, evitando incrementos demasiado abruptos y proporcionando un perfil más moderado a lo largo del tiempo (Rodrigues et al., 2020). Esta diferencia puede asociarse a la liberación gradual de células viables desde la matriz de almidón fosfatado-inulina, lo que modula su actividad metabólica dentro del producto. Shori y Zahrani (2021) mencionan que el metabolismo probiótico contribuye a potenciar la bioactividad antioxidante durante la vida útil de una bebida fermentada a base de almendras.

## **6.6 Supervivencia durante simulación gastrointestinal**

### **6.6.1 Comparación entre formas libre y encapsulada tras exposición a condiciones gástricas e intestinales simuladas**

La figura 9 muestra la evolución de la viabilidad de *L. casei* en el producto untable de almendra tras su exposición a condiciones gástricas (pH bajo con pepsina durante 100 min) y condiciones intestinales simuladas (pancreatina y sales biliares durante 120 min).



**Figura 9.** Viabilidad de *L. casei* libre y encapsulado en el producto untable fermentado de almendra durante su exposición a A) condiciones simuladas del tracto gástrico (0-100 min) y B) condiciones simuladas del tracto intestinal (100-220 min). Los resultados representan las medias de las muestras ( $n=3$ )  $\pm$  DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey,  $p<0.05$ ).

En la fase gástrica, ambas formas experimentaron una reducción significativa de la viabilidad respecto al tiempo inicial (10.1  $\log_{10}$  UFC/mL para el tratamiento con *L. casei* libre y 9.4  $\log_{10}$  UFC/mL para el tratamiento con *L. casei* encapsulado). Las células libres disminuyeron hasta 5.2  $\log_{10}$  UFC/mL después de 100 min, mientras que las encapsuladas se mantuvieron en 6.5  $\log_{10}$  UFC/mL. Esta diferencia sugiere que la microencapsulación proporcionó una barrera protectora frente a la acidez y enzimas gástricas, lo que permitió una mayor supervivencia celular.

Durante la fase intestinal, la brecha entre tratamientos se amplió, mientras *L. casei* libre descendió gradualmente hasta 4.1  $\log_{10}$  UFC/mL a los 220 min, el tratamiento



con células encapsuladas se mantuvo por encima de  $6 \log_{10}$  UFC/mL; considerado el umbral mínimo recomendado para garantizar un efecto probiótico en el colon. La inulina, además de ser parte del material encapsulante, pudo actuar como prebiótico, favoreciendo la estabilidad celular en condiciones hostiles. El porcentaje de reducción de células que se observó fue del 58.4% para el tratamiento con células libres y de 35.2% para el tratamiento con células encapsuladas. Estos valores concuerdan con lo reportado por Mondragón et al. (2024) en el cual durante el ensayo completo de TGI la reducción del número de células viables encapsuladas fue de  $3.2 \log_{10}$  UFC/mL, mientras que para el tratamiento de bacterias libres fue de  $6 \log_{10}$  UFC/mL, tal como se muestra en el Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Viabilidad de *L. casei* ATCC 334 libre y encapsulado durante la simulación de las condiciones del tracto gastrointestinal\*

Muestras	Fase gástrica		Fase intestinal		Diferencia después del TGI (log UFC/mL)
	0 min	100 min	160 min	220 min	
<b><i>L.casei</i> libre</b>	$10.1 \log_{10}$ UFC/mL <sup>A</sup>	$5.2 \log_{10}$ UFC/mL <sup>B</sup>	$5.0 \log_{10}$ UFC/mL <sup>B</sup>	$4.1 \log_{10}$ UFC/mL <sup>B</sup>	$6 \log_{10}$ UFC/mL <sup>a</sup>
<b><i>L.casei</i> encapsulado</b>	$9.4 \log_{10}$ UFC/mL <sup>A</sup>	$6.5 \log_{10}$ UFC/mL <sup>B</sup>	$6.3 \log_{10}$ UFC/mL <sup>B</sup>	$6.2 \log_{10}$ UFC/mL <sup>B</sup>	$3.2 \log_{10}$ UFC/mL <sup>b</sup>

\*Muestras ultrasonificadas a 40 % de amplitud. Los resultados representan las medias de las muestras (n=3)  $\pm$  DE. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Se confirma el beneficio funcional de la microencapsulación, pues las células encapsuladas no solo alcanzaron mayores niveles de supervivencia en el tránsito gástrico, sino que también lograron llegar en concentraciones adecuadas a la fase intestinal, donde ejercerían sus efectos benéficos (Liu et al., 2020). Estos resultados refuerzan la importancia de la encapsulación como estrategia tecnológica para asegurar la viabilidad gastrointestinal de probióticos en matrices vegetales fermentadas, sin embargo, hoy en día, sigue habiendo información muy limitada

sobre la adición de probióticos encapsulados adicionados a productos unttables fermentados y proporcionan información sobre la viabilidad de probióticos encapsulados en productos unttables fermentados de almendra.

## 6.7. Propiedades físico-estructurales del producto unttable de almendra

### 6.7.1 Análisis nutrimental del producto

A partir de los resultados anteriores, se prosiguió a evaluar el contenido nutrimental del producto unttable ultrasonificado y fermentado con adición del probiótico *L. casei* encapsulado, mediante análisis bromatológicos seguidos por las NOM-086-SSA1-1994 (Bienes y servicios, Alimentos y bebidas no alcohólicas en su composición. Especificaciones nutrimentales) y de la NOM-051-2010 (Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas). Los resultados nutrimentales se muestran en el Cuadro 7.

**Cuadro 7.** Composición nutrimental del producto unttable fermentado a base de almendra

Parámetros	Resultados (%)
Humedad	47.09 ± 0.62
Proteína	10.38 ± 0.37
Cenizas	0.74 ± 0.00
Grasa	29.86 ± 0.20
Fibra dietaria	4.44 ± 1.21
Sólidos solubles	7.49

Estos resultados reflejan una formulación nutricionalmente equilibrada dentro del rango esperado para análogos de queso blando de origen vegetal. El contenido de humedad relativamente alto (~47 %) se corresponde con su textura semiblanda, que facilita la untabilidad a la vez que mantiene una retención de agua suficiente para garantizar una sensación cremosa en boca. Grasso et al. (2021) reportaron valores

similares (47-54 %) para alternativas de origen vegetal. Además, Mefleh et al. (2022) reportaron un contenido de humedad de 59-62 % en análogos de queso untable de proteína de guisante e inulina-aceite de oliva, donde los valores de humedad se asociaron con propiedades reológicas deseables. El contenido de grasa alcanzó aproximadamente el 30%, en línea con el contenido lipídico de muchas alternativas comerciales de queso vegano (16-35%), según lo reportado por Grasso et al. (2021) y Craig et al. (2022). El contenido lipídico relativamente alto podría mejorar la suavidad y el sabor, características deseadas en los quesos para untar (Mefleh et al., 2022). Sin embargo, a diferencia de los quesos veganos formulados únicamente con grasas saturadas de coco y aceite de palma, que dominan el mercado actual, el perfil lipídico de nuestra crema para untar a base de almendras (con solo un 1% de aceite de palma en su formulación) probablemente le confiera propiedades nutricionales favorables, ya que las almendras contienen principalmente ácidos grasos monoinsaturados (es decir, ácido oleico). En cuanto al contenido proteico (aproximadamente el 10%), los resultados son comparables con los de las alternativas comerciales de queso vegetal, que suelen oscilar entre el 10 y el 15% (Craig et al., 2022), y superiores a los de los quesos para untar (7%), según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2019). Por lo tanto, la matriz de almendra representa un aporte proteico significativo, manteniendo una consistencia suave y untable.

#### **6.7.2 Análisis de textura del producto untable de almendra**

Los parámetros de textura del producto untable fermentado de almendra mostraron variaciones atribuibles tanto al tratamiento por ultrasonido como a la fermentación e inoculación con *L. casei*. El Cuadro 8 muestra los valores de textura de los productos untables de almendra ultrasonificados y fermentados, donde la fuerza (N) representa la profundidad máxima de penetración, F1 se considera como la firmeza de la muestra, A1 indica la fuerza total necesaria para realizar el proceso de

cizallamiento y se considera una buena medida instrumental de la untabilidad en quesos crema y otros productos untables, donde valores menores o más bajos del área A1 indican una mayor facilidad para untar, F2 indica la pegajosidad de la muestra, y el área negativa máxima A2 representa el trabajo de adhesión (Bayarri et al., 2012).

**Cuadro 8.** Efecto del ultrasonido y la fermentación con *L. casei* en las propiedades de textura del producto untable de almendra

	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>
<b>Tratamientos</b>	<b>Firmeza (N)</b>	<b>Pegajosidad (N)</b>	<b>Untabilidad (mJ)</b>	<b>Adhesividad (mJ)</b>
<b>Sin ultrasonido</b>	0.73±0.03 <sup>B</sup>	0.14±0.02 <sup>C</sup>	3.77±0.38 <sup>A</sup>	0.63±0.25 <sup>C</sup>
<b>Con ultrasonido</b>	0.74±0.02 <sup>B</sup>	0.13±0.04 <sup>C</sup>	2.92±0.09 <sup>B</sup>	0.7±0.34 <sup>C</sup>
<b>Ultrasonificadas y fermentadas con <i>L. casei</i> libre</b>	0.93±0.10 <sup>A</sup>	0.25±0.04 <sup>B</sup>	3.71±0.39 <sup>A</sup>	0.96±0.15 <sup>B</sup>
<b>Ultrasonificadas y fermentadas con <i>L. casei</i> microencapsulado</b>	0.95±0.09 <sup>A</sup>	0.31±0.03 <sup>A</sup>	2.90±0.14 <sup>B</sup>	1.56±0.65 <sup>A</sup>

Los datos se presentan como media ± DE (n = 3). Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey.

Di Monaco et al. (2008) resaltan que, en algunos alimentos, la textura puede ser un factor aún más determinante que el sabor o el color en la preferencia del consumidor, considerándose incluso el atributo sensorial más influyente en la elección del producto. En este caso, en cuanto a la firmeza, los tratamientos ultrasonificados y fermentados presentaron valores más elevados (0.93-0.95 N) respecto a las muestras sin fermentar (0.73- 0.74 N). Li et al. (2013) reportaron que un producto untable fermentado de soya se preparó con métodos combinados de fermentación con GDL (glucono-δ-lactona) para acidificar y bacterias lácticas, mostrando un sistema estructural más estable y menos susceptible a fracturas, además de textura homogénea después de la fermentación. Estos resultados

sugieren que la fermentación combinada contribuyó a mejorar tanto las propiedades estructurales como las sensoriales del producto.

La pegajosidad (F2) también aumentó con la fermentación, alcanzando su máximo valor en el tratamiento con *L. casei* encapsulado (0.31 N). Este valor correspondiente a la adhesividad instrumental que refleja la pegajosidad sensorial del producto untable de almendra; ya que la adhesividad representa el esfuerzo necesario para el movimiento de la mandíbula en la boca debido a la pegajosidad, aceptable en productos untables (Zhao et al., 2021). Por su parte, la untabilidad mostró una ligera disminución en las muestras con ultrasonido y fermentadas con *L. casei* encapsulado (2.90 mJ), lo que indica que estos tratamientos, aunque generan una textura firme, muestran facilidad de extensión del producto untable de almendra. Finalmente, la adhesividad se incrementó notablemente en el tratamiento con *L. casei* encapsulado (1.56 mJ), lo que podría relacionarse con la presencia de compuestos excretados durante la fermentación que favorecen una matriz más cohesiva y pegajosa, siendo sensorialmente aceptable en este tipo de productos.

He et al. (2023) evaluaron productos de mantequilla de semilla de algodón y obtuvieron valores de firmeza de  $1.62 \text{ N} \pm 0.63$ ,  $2.58 \text{ mJ} \pm 1.07$  en untabilidad y  $1.68 \text{ mJ} \pm 0.06$  en adhesividad. Los autores refirieron que, si bien el componente de aceite en los productos untables a base de vegetales es importante ya que contribuye predominantemente a las propiedades de adhesividad, otros componentes como los carbohidratos y proteínas también influyen en la adhesividad del producto untables.

### **6.7.3 Reología inicial y tras almacenamiento del producto fermentado untable de almendra**

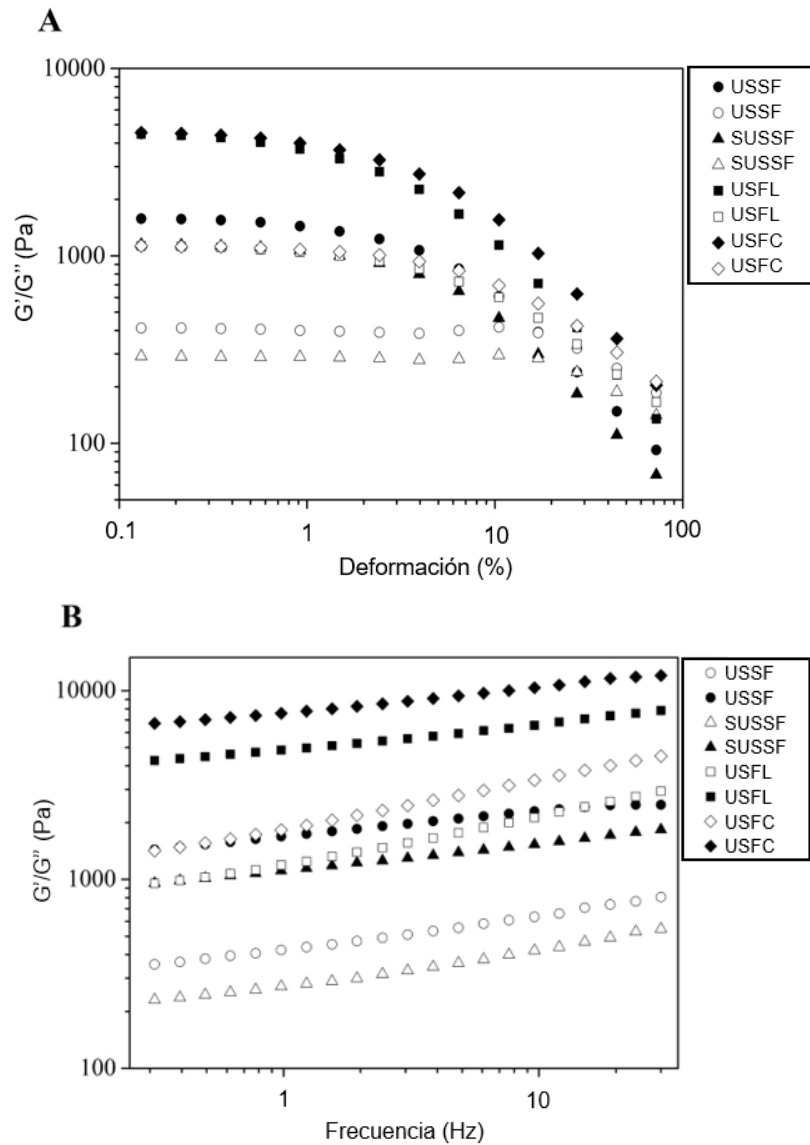
En las figuras 10A y 10B se muestra el efecto de la deformación y frecuencia, respectivamente sobre los módulos de almacenamiento y de pérdida de los

tratamientos adicionados de *L. casei* a las 24 horas de la fermentación del producto untable de almendra.

En el primer tiempo de evaluación (a las 24 h de preparación), todos los tratamientos del producto untable de almendra mostraron comportamiento viscoelástico típico de geles débiles, en el que el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) fue superior al módulo de pérdida ( $G''$ ) a lo largo de todo el rango de frecuencia, indicando una estructura predominantemente elástica (McClements, 2023). Los valores más altos de  $G'$  observados en las muestras ultrasonificadas y fermentadas (USFL y USFC) sugieren una red estructural más consolidada, que se respalda con los resultados de firmeza previamente mencionados en el Cuadro 8. El predominio del módulo de almacenamiento sobre el módulo de pérdida sugiere un comportamiento de gel débil, típico de las pastas estructuradas. Este aumento de la viscoelasticidad concuerda con la disminución observada en la pegajosidad en el Cuadro 8, ya que una mejor estructuración interna limita el flujo excesivo durante la aplicación (Kaveh et al., 2023). Diversos estudios han analizado la reología de corte dinámica de los geles de proteína de semillas como la almendra empleando esta misma metodología (Zhu et al., 2018).

En el barrido de frecuencia (Figura 10B), tanto  $G'$  como  $G''$  aumentaron gradualmente con la frecuencia, manteniendo pendientes casi paralelas, un patrón característico de los sólidos viscoelásticos (Shiroodi et al., 2012). El ligero aumento de  $G'$  podría indicar una estructura de gel más interconectada con el tiempo. Este incremento podría deberse a fenómenos de agregación producidos por la post-acidificación y la estabilización de los dominios de agua-polisacáridos durante el almacenamiento, lo que contribuye a la retención de la firmeza y a una untabilidad uniforme (Bayarri et al., 2012). Por otro lado, el cambio mínimo en  $G''$  muestra que la matriz USFC evolucionó hacia un estado más elástico y cohesivo sin volverse quebradiza. El papel de la sonicación en la mejora de la homogeneidad de la matriz

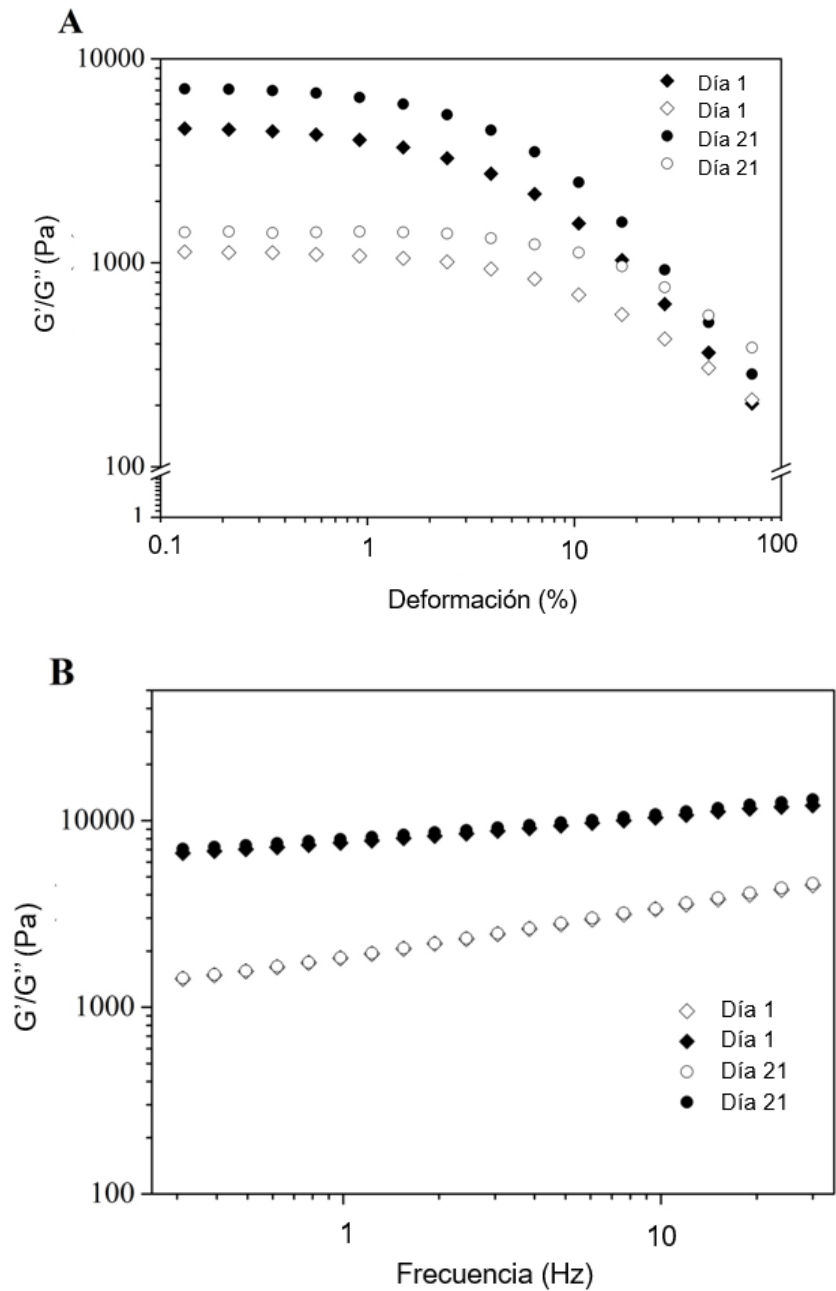
coincide con observaciones previas en sistemas lácteos y de origen vegetal, donde la cavitación acústica potencia las asociaciones proteína-polisacárido y estabiliza el comportamiento reológico (Manzoor et al., 2021; Prempeh et al., 2025). Estos hallazgos concuerdan con el mantenimiento del equilibrio viscoelástico observado en el USFC.



**Figura 10.** Barrido de deformación (A) y barrido de frecuencia (B) para muestras de fermentado de almendra a las 24 h de su preparación adicionado de *L. casei* ATCC 334 libre y encapsulado. **USSF:** Ultrasonificado sin fermentar, **SUSFF:** Sin ultrasonificar y sin fermentar, **USFL:** Ultrasonificado fermentado con *L. casei* libres, **USFC:** Ultrasonificado fermentado con *L. casei* encapsuladas. Resultados expresados como el promedio de tres réplicas  $\pm$  DE.



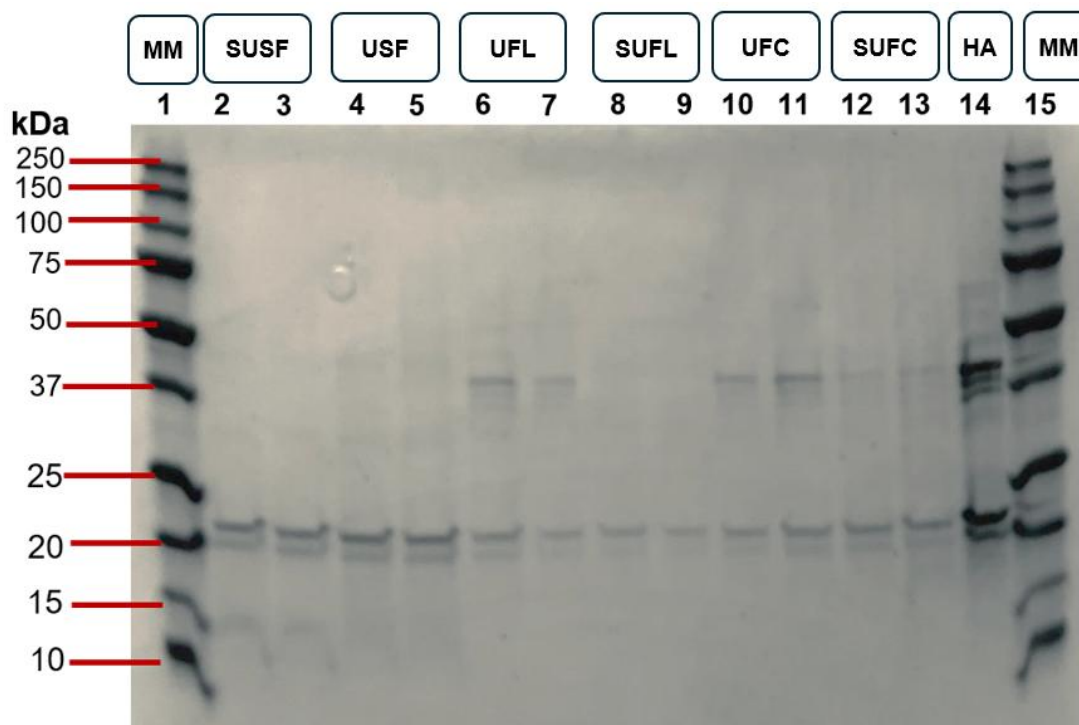
La figura 11 muestra los cambios en el comportamiento viscoelástico de la muestra USFC durante el almacenamiento. Tanto en los barridos de deformación como de frecuencia, la muestra presentó un perfil de gel débil, donde el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) superó consistentemente al módulo de pérdida ( $G''$ ), lo que indica la predominancia del comportamiento elástico sobre el viscoso (Bayarri et al., 2012; Shiroodi et al., 2012). Durante el barrido de deformación,  $G'$  y  $G''$  permanecieron casi constantes dentro del rango viscoelástico lineal (LVR) hasta aproximadamente el 1% de deformación, lo que indica que la microestructura resistió la deformación sin romperse. Superado este umbral, ambos módulos disminuyeron, evidenciando la disrupción de la red interna. Tras 21 días de almacenamiento, la magnitud de  $G'$  aumentó con respecto al día 1, lo que sugiere que el almacenamiento en frío favoreció el refuerzo progresivo de la matriz. Este comportamiento se observa comúnmente en productos para untar fermentados o que contienen goma, donde los reordenamientos lentos entre proteínas y polisacáridos mejoran la elasticidad (Bayarri et al., 2012). En este sentido, el ligero fortalecimiento observado podría estar asociado a interacciones poliméricas o a la actividad metabólica residual de los probióticos.



**Figura 11.** Barrido de deformación (A) y frecuencia (B) para la muestra del producto untale ultrasonificado fermentado con *L. casei* microencapsulado (USFC) a los 21 días de su preparación. Resultados expresados como el promedio de tres réplicas  $\pm$  DE.

#### 6.7.4 Electroforesis (SDS-PAGE): perfil de proteínas

Se realizó una electroforesis en gel SDS-PAGE para determinar la distribución molecular del concentrado proteico del producto untable de almendra variando los tratamientos con ultrasonificación y fermentación (Figura 12).



**Figura 12.** Perfil electroforético del producto untable a base de harina de almendra y los diferentes tratamientos. **MM:** marcador, **SUSF:** Sin ultrasonicar sin fermentar, **USF:** Ultrasonicado y sin fermentar, **UFL:** Ultrasonicado fermentado con *L. casei* libre, **SUFL:** Sin ultrasonicar fermentado con *L. casei* libre, **UFC:** Ultrasonicado fermentado con *L. casei* encapsulado, **SUFC:** Sin ultrasonicar fermentado con *L. casei* encapsulado, **HA:** Harina de almendra diluida en agua.

Se utilizó como referencia un marcador proteico de un rango de 10 a 250 kDa colocado en el primer y último carril (1 y 15), para los carriles 2 y 3 se encuentran las muestras sin ultrasonicar ni fermentar (SUSF), los carriles 4 y 5 (USF) fueron

asignados para los tratamientos ultrasonificados pero sin fermentar, el 6 y 7 (UFL) fueron para el tratamiento fermentado con adición de *L. casei* en su forma libre con ultrasonificación, el 8 y 9 (SUFL) fueron para el tratamiento fermentado con adición de *L. casei* en su forma libre pero sin ultrasonificación, el 10 y 11 (UFC) fueron para el tratamiento fermentado con adición de *L. casei* encapsulados con ultrasonificación, el 12 y 13 (SUFC) fueron para el tratamiento fermentado con adición de *L. casei* encapsulados pero sin ultrasonificación y el carril 14 (HA) de harina de almendra sin tratamientos, como un control nativo.

Se puede observar que, tanto en las muestras sin ningún tratamiento (fermentación ni ultrasonificación) en los carriles 2 y 3 y también en los carriles 4 y 5 (sin fermentación, pero ultrasonificados) aparecen más marcadas las bandas de aproximadamente entre 20-22 kDa, que corresponden a la subunidad básica de la prunina (Pru du 6), también llamada amandina, la cual representa aproximadamente el 70% de las proteínas solubles totales y es el principal componente proteico de la almendra, así como su principal alérgeno (De Angelis et al., 2018). Sin embargo, esas bandas son constantes en todos los tratamientos.

En los tratamientos fermentados con *L. casei* en su forma libre (carriles 6 y 7) y los tratamientos fermentados con *L. casei* en su forma encapsulada (carriles 10 y 11) se observó la aparición en la banda de 37kDa, a la cual se atribuye a (R)-mandelonitrilo liasa 2 (*Prunus dulcis* (Mill.) DA Webb) (De Angelis et al., 2018).

En el carril 14 se encuentra la muestra de harina de almendra diluida en agua, teniendo la función de un control nativo donde las bandas coinciden con las fracciones de proteína de almendra reportadas, confirmando que los cambios en las demás muestras se deben al procesamiento de fermentación y ultrasonificación. Además de que, diversos estudios han demostrado que la prunina es térmicamente estable, presentando desdoblamiento parcial solo a temperaturas superiores a 94

°C. Además, tiende a agregarse a la matriz alimentaria, produciendo diferentes estructuras. En presencia de agua, la prunina se desnaturaliza fácilmente, con la consiguiente disminución de su alergenicidad (De Angelis et al., 2018).

#### **6.7.5 Perfil de metabolitos de bajo peso molecular**

Se realizó la identificación de compuestos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (GC-MS) en dos muestras: el perfil base (ultrasonificado sin fermentar) en el Cuadro 9 y el perfil ultrasonificado y fermentado con células microencapsuladas en el Cuadro 10. En el perfil base se detectaron 71 compuestos, mientras que en el perfil ultrasonificado y fermentado en el Cuadro 11 se identificaron 128 compuestos entre ellos, aminoácidos y derivados como alanina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico y prolina, la fermentación evidenció una proteólisis activa mediada por enzimas de origen láctico, lo cual es típico de la fermentación láctica. Este resultado es significativo, ya que en matrices vegetales la acción proteolítica de las bacterias lácticas es considerablemente menos eficaz que en productos lácteos, siendo este proceso fundamental para el desarrollo del sabor y la textura durante la fermentación (Harper et al., 2022).

Para el análisis comparativo y la interpretación biológica de los resultados, se consideraron únicamente aquellos metabolitos cuya similitud con la base de datos del espectro de masas fue igual o superior al 70%, con el fin de asegurar una identificación confiable y representativa de los perfiles volátiles característicos de cada tratamiento.

**Cuadro 9.** Metabolitos de bajo peso molecular en la muestra del producto untable ultrasonificado sin fermentar de almendra (perfil base).

Comp.	Rt.	Identificación tentativa	CAS	Área relativa (%)
1	37.057	(1,2,5) Oxadiazolo(3,4-f) cinolina, 4,5-dihidro-9-metil-, 3-óxido	302604-99-5	70
2	9.608	ácido l-aspártico	1000333-28-8	70
3	20.303	D-xilofuranosa	056271-68-2	72
4	12.478	ácido 2, 3, 4-trihidroxibutírico	038191-88-7	74
5	36.395	antra-9,10-quinona, 1-(3-hidroxi-3-fenil-1-triazenil)	098496-82-3	74
6	35.252	Monooleoilglicerol	054284-47-8	74
7	13.014	L-asparagina	1000333-25-8	83
8	17.710	$\beta$ -D-Galactofuranosa	007045-52-5	83
9	17.346	Silano, [1,2,4,5-ciclohexanotetrailtetrakis(oxi)]tetrakis[trimetil-	100258-68-2	86
10	17.622	D-xilopiranososa	055555-45-8	87
11	18.736	D-xilosa	018623-22-8	87
12	23.925	Éter TMS de glicéril-glicósido	1000365-90-1	87
13	11.546	L-5oxoprolina	030274-77-2	87
14	19.274	D-manitol	014317-07-8	89
15	34.420	sucrosa, éter octakis(trimetilsilil)	1000380-09-1	90
16	17.019	D-(-)-fructofuranosa	1000380-16-7	91
17	6.786	Glicerol	006787-10-6	91
18	20.019	D-glucosa	006736-97-6	94

19	18.505	galactorpiranosa	001769-00-2	94
20	16.270	glicerol 3-fosfato	031038-11-6	94
21	18.353	ácido manónico	055515-30-5	96
22	27.436	Oleil amida	000301-02-0	96
23	15.797	ácido orótico (3TMS)	031111-36-1	97
24	40.380	beta-sitosterol	002625-46-9	97
26	10.962	ácido butanodioico	038166-11-9	98
27	6.912	Fosfato	010497-05-9	98
28	23.432	Ácido linoleico	056259-07-5	99
29	24.143	Ácido esteárico	018748-91-9	99
30	20.543	ácido hexadecanoico	055520-89-3	99
31	23.562	ácido trans-9-octadecenoico	096851-47-7	99

La identificación de compuestos como xilulosa, sacarosa, mioinositol, treitol y eritritol en el producto untable sometido a ultrasonido y fermentación puede atribuirse tanto a la estructura de los polisacáridos presentes en la almendra como a la actividad metabólica de las bacterias lácticas. Las paredes celulares de la almendra contienen pectina, arabinanos, galactanos y xiloglucanos, ricos en arabinosa, galactosa, xilosa y ácidos urónicos (Grundy et al., 2016); los cuales pueden sufrir una despolimerización parcial inducida por el tratamiento ultrasónico y la acción enzimática durante la fermentación. Este proceso facilita la liberación de fragmentos de hemicelulosa y pentosas, que pueden transformarse en xilulosa mediante isomerización o convertirse en polioles de bajo peso molecular por reducción. La

presencia de mioinositol se relaciona con la degradación del fitato, favorecida por la acción de la fitasa y el ambiente ácido generado por *L. casei* y las bacterias del cultivo iniciador. La sacarosa, un disacárido característico de la almendra, puede permanecer como residuo tras el proceso fermentativo. Por su parte, el treitol y el eritritol derivan de la reducción de azúcares, resultado del procedimiento de derivatización previo al análisis por cromatografía de gases.

Asimismo, la presencia de ácidos succínico y glicérico confirma su papel como intermediarios esenciales en el metabolismo microbiano. La detección de ácidos grasos (C14:0, C16:0, C18:0, C18:1, C18:2) y sus ésteres de trimetilsililo indica que se produjo una hidrólisis y oxidación parcial de lípidos, procesos intensificados por la fermentación y la cavitación ultrasónica. La aparición conjunta de monoacilgliceroles,  $\beta$ -sitosterol y  $\alpha$ -tocoferol sugiere que estas condiciones mejoraron la liberación de antioxidantes lipofílicos y esteroides desde la matriz de la almendra, lo cual se refleja en los resultados obtenidos sobre la capacidad antioxidante.



**Cuadro 10.** Metabolitos de bajo peso molecular en la muestra del producto untable ultrasonificado fermentado de almendra (perfil transformado)

Comp.	Rt.	Identificación tentativa	CAS	Área relativa
1	12.446	Ácido L-treónico, éter tris(trimetilsililo), éster trimetilsililo	1000352-53-3	93
2	38.324	(+)-alfa-tocoferol, O-trimetilsilil-	002733-26-8	96
3	23.480	Ácido 11-trans-octadecenoico, éster trimet-1-hidroxisililo	1000333-56-0	99
4	15.811	1-Trimetilsililoxi tetradecano	006221-89-2	83
5	32.541	2-monopalmitoilglicerol trimetilsilil éter	053212-97-8	80
6	20.199	3-Bromo-5-etoxi-4-hidroxibenzaldehído	003111-37-3	83
7	23.349	Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)-, éster 1-trimetilsililo	056259-07-5	99
8	6.034	ácido 2 hidroxil-4-metil pentanoico	054890-08-3	95
9	7.414	Ácido butanodioico	040309-57-7	98
10	7.851	Ácido glicérico	038191-87-6	87
11	4.890	ácido pentanoico	055887-46-2	78
12	9.556	ácido-L-aspartico	1000333-28-8	90
13	11.881	Alanina, fenil-, éster trimetilsililo, dl-	002899-42-5	83
14	32.760	alfa-D-glucopiranosido, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimetilsilil)-beta-D-fructofuranosil 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimetilsilil)-	019159-25-2	70
15	35.769	alfa-DL-Lixofuranósido, metil 2,3,5-tris-O-(trimetilsilil)-	056390-03-5	72
16	17.566	alfa.-D-xilopiranososa, 1,2,ξ,4-tetrakis-O-(trimetilsilil)-	014251-20-8	74
17	36.976	Arabinopiranososa, tetrakis-O-(trimetilsilil)-, .alfa.-D-	020585-61-9	68
18	12.685	Ácido bencenopropanoico, α-[(trimetilsilil)oxi]-, éster trimetilsilílico	027750-45-4	91

19	40.272	éter trimetilsilílico de beta-sitosterol	002625-46-9	99
20	32.074	ftalato de bis(2-etilhexilo)	000117-81-7	87
21	7.112	Butano	033581-76-9	87
22	16.978	D-(-)-Fructofuranosa, éter pentakis(trimetilsililo) (isómero 2)	1000380-16-7	93
23	20.268	D-(-)-Lixofuranosa, tetrakis(trimetilsilil) éter	1000380-20-3	72
24	20.023	D-(+)-Talofuranosa, éter pentakis(trimetilsilil) (isómero 1)	1000380-17-3	70
26	17.124	D-psicofuranosa, éter pentakis(trimetilsililo) (isómero 2)	1000380-12-8	93
27	18.327	Ácido galactónico, 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimetilsilil)-, lactona	055528-74-0	99
28	36.425	Lactopiranos, 1,2,ξ,4,6-pentakis-O-(trimetilsilil)-, β-δ-	001769-00-2	68
29	19.399	Ácido glucárico, 2,3,5-tris-O-(trimetilsilil)-, gamma-lactona, 6-(trimetilsilil) éster	056272-60-7	76
30	35.968	Glucofuranósido, metil 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimetilsilil)-, .alfa.-D-	006736-96-5	68
31	13.403	Ácido glutámico, N-(trimetilsilil)-, éster bis(trimetilsilil), L-	015985-07-6	98
32	20.487	Ácido hexadecanoico, éster trimetilsilílico	055520-89-3	99
33	12.916	L-asparagina, N2-trimetilsilil-, éster trimetilsililo	1000333-25-8	93
34	18.663	Levoglucosano, tris(trimetilsilil)	007449-14-1	74
35	11.483	L-Prolina, 5-oxo-1-(trimetilsilil)-, éster trimetilsililo	030274-77-2	98
36	11.262	L-treitol, tetrakis(trimetilsilil) éter	1000380-14-0	81
37	36.186	Lixopiranósido, metil 2,3,4-tris-O-(trimetilsilil)-	056271-61-5	72
38	11.413	meso-eritritol, tetrakis(trimetilsilil) éter	1000380-14-0	81

39	5.491	Metoxisilano de dimetilo	018107-29-4	78
40	21.651	Mioinositol, 1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimetilsilil)-	002582-79-8	91
41	24.015	Ácido octadecanoico, éster trimetilsililo	018748-91-9	99
42	12.553	Ácido pentanodioico, 2-[(trimetilsilil)oxi]-, éster bis(trimetilsilil)	055530-62-6	91
43	16.188	Ácido fosfórico, éster bis(trimetilsilil) 2,3-bis[(trimetilsilil)oxi]propílico	031038-11-6	94
44	7.939	Pirimidina	010457-14-4	93
45	12.218	Silano, (dodeciloxi)trimetil-	006221-88-1	74
46	6.785	Silanol, trimetil-, fosfato (3:1)	010497-05-9	90
47	34.359	Sacarosa, octakis(trimetilsilil) éter	1000380-09-1	91
48	17.270	Ácido tetradecanoico, éster trimetilsilílico	018603-17-3	99

**Rt:** tiempo de retención, **CAS:** Chemical Abstracts Service (Servicio de identidad química)

Los resultados sugieren que la fermentación de los extractos a base de almendras puede ayudar a mitigar las desventajas nutricionales y sensoriales de las alternativas lácteas de origen vegetal. Por otro lado, el pretratamiento con ultrasonidos del extracto de almendra podría facilitar la proteólisis al mejorar la permeabilidad celular y promover la hidrólisis enzimática, como se observó previamente en sistemas lácteos (Gao et al., 2021).

**Cuadro 11.** Metabolitos que aumentaron o disminuyeron tras la fermentación.

<b>Metabolito</b>	<b>Abundancia (%) Muestra sin fermentar</b>	<b>Abundancia (%) Muestra fermentada</b>	<b>Cambio (%)</b>
Éter octakis(trimetilsilil) de sacarosa	30.98	8.09	-22.89
D-glucosa	4.62	0.62	-4.00
D-fructofuranosa	3.55	0.39	-3.16
β-D-Galactofuranósido	0.21	0.62	+0.41
Ácido octadecanoico	0.25	0.53	+0.28
Ácido esteárico	0.22	0.22	0.00
D-Ribosa	0.04	0.04	0.00
Escopolina (trimetilsilil)	0.00	11.51	+11.51
Ácido butanoico	0.00	0.33	+0.33
Ácido pentanoico	0.00	0.42	+0.42

## **6.8 Perspectivas y limitaciones del estudio**

Los resultados obtenidos en el presente estudio sobre el potencial de la ultrasonificación y la fermentación probiótica como estrategias tecnológicas para mejorar las propiedades estructurales y funcionales de productos vegetales tipo untable son prometedores, sin embargo, es importante considerar las limitaciones en la interpretación y aplicación de los hallazgos.

Primero, se reconoce que los ensayos fueron realizados a escala de laboratorio y con número limitado de condiciones de ultrasonido y formulaciones probióticas. La extrapolación de estos resultados a nivel industrial requerirá optimizar variables de

proceso como la amplitud y tiempo de ultrasonido, la composición de la matriz encapsulante y las condiciones de fermentación.

Asimismo, el estudio se centró en parámetros fisicoquímicos, reológicos y antioxidantes, pero no abordó la evaluación sensorial ni aceptabilidad del producto, factores que son determinantes para su factibilidad comercial.

Los resultados abren un campo prometedor para el desarrollo de alimentos funcionales a base de matrices vegetales fermentadas.

## 7. CONCLUSIONES

- I. El tratamiento de ultrasonido al 40% de amplitud durante 5 min presentó los valores más altos en los ensayos ABTS, DPPH y FRAP, en comparación con los demás tratamientos y el control. Aunque no se observaron diferencias significativas en la sinéresis entre los tratamientos ultrasonificados, respecto al control sí se redujo el desprendimiento de suero.
- II. La exposición a condiciones gástricas e intestinales simuladas mejoró la supervivencia bacteriana, manteniendo recuentos superiores al umbral recomendado para considerar un alimento probiótico ( $>6 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/mL}$ ). Estos resultados confirman la efectividad de la encapsulación como estrategia de protección funcional.
- III. La fermentación no sólo modifica la estructura fisicoquímica del producto, sino que también potencia su valor funcional mediante la producción o liberación de moléculas con capacidad antioxidante.
- IV. El análisis electroforético mostró bandas proteicas comunes entre todos los tratamientos, aunque sugiere modificaciones en la estructura proteica derivadas de la actividad enzimática de *L. casei* y de los efectos físicos del ultrasonido.
- V. El ultrasonido no modifica la firmeza inicial del producto untable, mientras que la fermentación con *L. casei* (tanto en su forma libre como encapsulada) incrementa la firmeza.  
  
Estos hallazgos confirman que las modificaciones estructurales inducidas por el tratamiento probiótico y tecnológico impactan de forma directa en la calidad sensorial y funcional del producto final.
- VI. Todos los tratamientos presentaron un comportamiento típico de geles débiles, con predominio en el módulo elástico ( $G'$ ) sobre el viscoso ( $G''$ ), y los tratamientos con ultrasonificación y fermentación mostraron una mayor estabilidad del módulo elástico a lo largo del almacenamiento.

- VII. La aplicación de ultrasonido de alta intensidad en conjunto con la fermentación en la producción del producto untable a base de almendra parece otorgarle un perfil metabólico enriquecido con aminoácidos, lípidos, carbohidratos y antioxidantes lipofílicos. Este conjunto de compuestos sugiere que dicho producto podría presentar una mayor facilidad de digestión y absorción, además de ofrecer efectos positivos para la salud.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Agriopoulou, S., Tarapoulouzi, M., Varzakas, T., & Jafari, S. M. (2023). Application of Encapsulation Strategies for Probiotics: From Individual Loading to Co-Encapsulation. *Microorganisms*, 11(12), 2896. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122896>
- Aguado Rivera, N. A. (2025). Comparación de la producción, compuestos nutrimentales y metabolitos de interés en *Pleurotus djamor* con tres residuos agroindustriales. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/11890>
- Ampofo, J., & Ngadi, M. (2022). Ultrasound-assisted processing: Science, technology and challenges for the plant-based protein industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105955. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105955>
- Arepally, D., & Goswami, T. K. (2018). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *LWT*, 99, 583-593. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.022>
- Arepally, D., Reddy, R. S., & Goswami, T. K. (2020). RETRACTED: Studies on survivability, storage stability of encapsulated spray dried probiotic powder. *Current Research In Food Science*, 3, 235-242. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.09.001>
- Askew, K. (2022). «La salud de las personas y nuestro planeta van de la mano»: Cómo el consumo responsable impulsa la nutrición sostenible. *Food Navigator*. <https://www.foodnavigator.com/Article/2022/06/15/The-health-of-people-and-ourplanet-go-hand-in-hand-How-conscientious-consumption-is-driving-sustainable-nutrition>



- Augustin, M. A., Hartley, C. J., Maloney, G. R., & Tyndall, S. M. (2023). Innovation in precision fermentation for food ingredients. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 1-21. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2166014>
- Bamidele, O., Duodu, K., & Emmambux, M. (2018). Encapsulation and antioxidant activity of ascorbyl palmitate with normal and high amylose maize starch by spray drying. *Food Hydrocolloids*, 86, 124-133. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.008>
- Banwo, K., Adebo, O. A., & Falade, T. D. O. (2024). Examples of Lactic-Fermented Foods of the African Continent. En CRC Press eBooks (pp. 312-327). <https://doi.org/10.1201/9781003352075-19>
- Barreca, D., Nabavi, S. M., Sureda, A., Rasekhian, M., Raciti, R., Sanches-Silva, A., Annunziata, G., Arnone, A., Tenore, G. C., Süntar, İ., & Mandalari, G. (2020). Almonds (*Prunus Dulcis* Mill. D. A. Webb): A Source of Nutrients and Health-Promoting Compounds. *Nutrients*, 12(3), 672. <https://doi.org/10.3390/nu12030672>
- Bayarri, S., Carbonell, I., & Costell, E. (2012). Viscoelasticity and texture of spreadable cheeses with different fat contents at refrigeration and room temperatures. *Journal Of Dairy Science*, 95(12), 6926-6936. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5711>
- Benzie, I. F., & Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bindels, L. B., Delzenne, N. M., Cani, P. D., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 12(5), 303–310. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.47>

- Bradford, R., Reyes, V., Bonilla, F., Bueno, F., Dzandu, B., Liu, C., Chouljenko, A., & Sathivel, S. (2019). Development of milk powder containing *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 immobilized with prebiotic hi-maize starch and survival under simulated gastric and intestinal conditions. *Food Production Processing And Nutrition*, 1(1). <https://doi.org/10.1186/s43014-019-0011-6>
- Brusati, M., Baroni, L., Rizzo, G., Giampieri, F., & Battino, M. (2023). Plant-Based Milk Alternatives in Child Nutrition. *Foods*, 12(7), 1544. <https://doi.org/10.3390/foods12071544>
- Bustamante, M., Laurie-Martínez, L., Vergara, D., Campos-Vega, R., Rubilar, M., & Shene, C. (2020). Effect of Three Polysaccharides (Inulin, and Mucilage from Chia and Flax Seeds) on the Survival of Probiotic Bacteria Encapsulated by Spray Drying. *Applied Sciences*, 10(13), 4623. <https://doi.org/10.3390/app10134623>
- Chavarri, M., Maranon, I., & Carmen, M. (2012). Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria. En InTech eBooks. <https://doi.org/10.5772/50046>
- Chémat, F., Zill-E-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813-835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426-442. <https://doi.org/10.1002/fft2.94>
- Craig, W. J., Mangels, A. R., & Brothers, C. J. (2022). Nutritional Profiles of Non-Dairy Plant-Based Cheese Alternatives. *Nutrients*, 14(6), 1247. <https://doi.org/10.3390/nu14061247>

- Da Silva Mendonça, J., De Cássia Avellaneda Guimarães, R., Zorretto-Pinheiro, V. A., Di Pietro Fernandes, C., Marcelino, G., Bogo, D., De Cássia Freitas, K., Hiane, P. A., De Pádua Melo, E. S., Vilela, M. L. B., & Nascimento, V. A. D. (2022). Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods. *Molecules*, 27(11), 3563. <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>
- Da Veiga, R. D. S., Da Silva-Buzanello, R. A., Corso, M. P., & Canan, C. (2019). Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. *The Journal Of Essential Oil Research*, 31(6), 457-473. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1612788>
- De Angelis, E., Bavaro, S. L., Forte, G., Pilolli, R., & Monaci, L. (2018). Heat and Pressure Treatments on Almond Protein Stability and Change in Immunoreactivity after Simulated Human Digestion. *Nutrients*, 10(11), 1679. <https://doi.org/10.3390/nu10111679>
- De Bellis, P., Sisto, A., & Lavermicocca, P. (2021). Probiotic bacteria and plant-based matrices: An association with improved health-promoting features. *Journal Of Functional Foods*, 87, 104821. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104821>
- De la Cruz Pech-Canul, Á., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N., & Solís-Oviedo, R. L. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings (Basel)*, 10(3), 197. <https://doi.org/10.3390/coatings10030197>
- De Palencia, P. F., López, P., Corbí, A. L., Peláez, C., & Requena, T. (2008). Probiotic strains: survival under simulated gastrointestinal conditions, in vitro adhesion to Caco-2 cells and effect on cytokine secretion. *European Food Research & Technology*, 227(5), 1475-1484. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0870-6>

- Di Monaco, R., Giancone, T., Cavella, S., & Masi, P. (2008). PREDICTING TEXTURE ATTRIBUTES FROM MICROSTRUCTURAL, RHEOLOGICAL AND THERMAL PROPERTIES OF HAZELNUT SPREADS. *Journal Of Texture Studies*, 39(5), 460-479. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2008.00154.x>
- FDA. (2023) Labeling of Plant-Based Milk Alternatives and Voluntary Nutrient Statements: Guidance for Industry Draft Guidance. <https://www.regulations.gov>
- Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2020). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 61(9), 1515-1536. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773>
- Gama, T., Wallace, H. M., Trueman, S. J., & Bai, S. H. (2018). Variability in crude protein and mineral nutrient concentrations of almonds. *Acta Horticulturae*, 1219, 213-218. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2018.1219.34>
- Gao, Y., Hou, L., Gao, J., Li, D., Tian, Z., Fan, B., Wang, F., & Li, S. (2021). Metabolomics Approaches for the Comprehensive Evaluation of Fermented Foods: A Review. *Foods*, 10(10), 2294. <https://doi.org/10.3390/foods10102294>
- Garcia-Perez, P., Xiao, J., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Rajoka, M. S. R., Barros, L., Mascoloti Sprea, R., Amaral, J. S., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Revalorization of almond by-products for the design of novel functional foods: An updated review. In *Foods* (Vol. 10, Issue 8, pág). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10081823>

- García-Tejeda, Y. V., Salinas-Moreno, Y., Hernández-Martínez, Á. R., & Martínez-Bustos, F. (2015). Encapsulation of Purple Maize Anthocyanins in Phosphorylated Starch by Spray Drying. *Cereal Chemistry*, 93(2), 130-137. <https://doi.org/10.1094/cchem-04-15-0072-r>
- Grasso, N., Roos, Y., Crowley, S., Arendt, E., & O'Mahony, J. (2021). Composition and physicochemical properties of commercial plant-based block-style products as alternatives to cheese. *Future Foods*, 4, 100048. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100048>
- Grundy, M. M., Lapsley, K., & Ellis, P. R. (2016). A review of the impact of processing on nutrient bioaccessibility and digestion of almonds. *International Journal Of Food Science & Technology*, 51(9), 1937-1946. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13192>
- Gul, O. (2017). Microencapsulation of *Lactocaseibacillus casei* Shirota by spray drying using different combinations of wall materials and application for probiotic dairy dessert. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 41(5), e13198. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13198>
- Harper, A. R., Dobson, R. C., Morris, V. K., & Moggré, G. (2022). Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology*, 15(5), 1404-1421. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14008>
- He, Z., Rogers, S. I., Nam, S., & Klasson, K. T. (2023). The Effects of Oil Content on the Structural and Textural Properties of Cottonseed Butter/Spread Products. *Foods*, 12(22), 4158. <https://doi.org/10.3390/foods12224158>
- Hidalgo-Fuentes, B., De Jesús-José, E., De J Cabrera-Hidalgo, A., Sandoval-Castilla, O., Espinosa-Solares, T., González-Reza, R. M., Zambrano-Zaragoza, M. L., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. (2024). Plant-Based

Fermented Beverages: Nutritional Composition, Sensory Properties, and Health Benefits. *Foods*, 13(6), 844. <https://doi.org/10.3390/foods13060844>

Homayouni-Rad, A., Mortazavian, A. M., Mashkani, M. G., Hajipour, N., & Pourjafar, H. (2021). Effect of *Alyssum homolocarpum* mucilage and inulin microencapsulation on the survivability of *Lactocaseibacillus casei* in simulated gastrointestinal and high-temperature conditions. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 35, 102075. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102075>

Hortencia, M. L. A. (2025). *Elaboración y evaluación del desarrollo de tres quesos veganos de chochos (Lupinus mutabilis), soya (Glycine max) y garbanzo (Cicer arietinum)*. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/15560>

Huang, C., Liou, J., Lee, A., Tseng, M., Miyashita, M., Huang, L., & Watanabe, K. (2018). Polyphasic characterization of a novel species in the *Lactobacillus casei* group from cow manure of Taiwan: Description of *L. chiayiensis* sp. nov. *Systematic And Applied Microbiology*, 41(4), 270-278. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2018.01.008>

Ibrahim, G. E., I. M. Hassan, A. M. Abd-Elrashid, K. F. El-Massry, A. H. Eh-Ghorab, M. R. Manal, and F. Osman. 2011. Effect of clouding agents on the quality of apple juice during storage. *Food Hydrocoll.* 25:91–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.05.009>

Jeewanthi, RKC, Paik, HD. Modificaciones de las características nutricionales, estructurales y sensoriales de análogos de queso de soja no lácteos para mejorar sus atributos de calidad. *J Food Sci Technol* 55 , 4384–4394 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3408-3>

- Kaveh, S., Gholamhosseinpour, A., Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D., Castagnini, J. M., Phimolsiripol, Y., & Barba, F. J. (2023). Recent advances in ultrasound application in fermented and non-fermented dairy products: antibacterial and bioactive properties. *International Journal Of Food Science & Technology*, 58(7), 3591-3607. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16457>
- La Torre, C., Caputo, P., & Fazio, A. (2025). Effect of Milk and Water Kefir Grains on the Nutritional Profile and Antioxidant Capacity of Fermented Almond Milk. *Molecules*, 30(3), 698. <https://doi.org/10.3390/molecules30030698>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Li, Q., Xia, Y., Zhou, L., & Xie, J. (2013). Evaluation of the rheological, textural, microstructural and sensory properties of soy cheese spreads. *Food And Bioproducts Processing*, 91(4), 429-439. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.03.001>
- Lipan, L., Rusu, B., Sendra, E., Hernández, F., Vázquez-Araújo, L., Vodnar, D. C., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2020). Spray drying and storage of probiotic-enriched almond milk: probiotic survival and physicochemical properties. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture/Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 100(9), 3697-3708. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10409>
- Liu, H., Xie, M., & Nie, S. (2020). Recent trends and applications of polysaccharides for microencapsulation of probiotics. *Food Frontiers*, 1(1), 45-59. <https://doi.org/10.1002/fft2.11>
- Maghsoudlou, Y., Alami, M., Mashkour, M., & Shahraki, M. H. (2015). Optimization of Ultrasound-Assisted Stabilization and Formulation of Almond Milk. *Journal*

- Of Food Processing And Preservation*, 40(5), 828-839.  
<https://doi.org/10.1111/jfpp.12661>
- Manzoor, M. F., Siddique, R., Hussain, A., Ahmad, N., Rehman, A., Siddeeg, A., Alfarga, A., Alshammari, G. M., & Yahya, M. A. (2021). Thermosonication effect on bioactive compounds, enzymes activity, particle size, microbial load, and sensory properties of almond (*Prunus dulcis*) milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 78, 105705. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105705>
- Mathur, H., Beresford, T., & Cotter, P. D. (2020). Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. *Nutrients*, 12(6), 1679. <https://doi.org/10.3390/nu12061679>
- McClements, D. J. (2023). Modeling the rheological properties of plant-based foods: Soft matter physics principles. *Sustainable Food Proteins*, 1(3), 101-132. <https://doi.org/10.1002/sfp2.1015>
- Mefleh, M., Pasqualone, A., Caponio, F., De Angelis, D., Natrella, G., Summo, C., & Faccia, M. (2022). Spreadable plant-based cheese analogue with dry-fractioned pea protein and inulin–olive oil emulsion-filled gel. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 102(12), 5478-5487. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11902>
- Mohammed, N. K., Tan, C. P., Manap, Y. A., Muhialdin, B. J., & Hussin, A. S. M. (2020). Spray Drying for the Encapsulation of Oils—A Review. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 25(17), 3873. <https://doi.org/10.3390/molecules25173873>
- Mondragón (2024). EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ULTRASONICACIÓN EN LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y DE ESTABILIDAD DE UNA BEBIDA DE ALMENDRA ADICIONADA DE PROBIÓTICOS. Tesis de licenciatura,



Universidad Autónoma de Queretaro. Repositorio digital de tesis y trabajos de investigación. <https://ri-ng.uaq.mx/xmlui/handle/123456789/11053>

Mortazavian, A., Razavi, S. H., & Ehsani, M. R. (2007, 1 enero). *Principles and Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganisms*. [https://www.ijbiotech.com/article\\_7032.html](https://www.ijbiotech.com/article_7032.html)

Murúa-Pagola, B., Sánchez-Alaniz, R., Castaño-Tostad, E., & Amaya-Llano, S. L. (2016). Evaluación de la sobrevivencia del probiótico *Lactocaseibacillus 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. *Ciencia Uaq*. [https://www.uaq.mx/investigacion/revista\\_ciencia@uaq/ArchivosPDF/v9-n1/QUIM-2.pdf](https://www.uaq.mx/investigacion/revista_ciencia@uaq/ArchivosPDF/v9-n1/QUIM-2.pdf)

Ningtyas, D. W. (2022). Plant-based butter like spreads. En Elsevier eBooks (pp. 151-166). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-89842-3.00013-0>

Özcan, M. M., Ahmed, I. A. M., Uslu, N., Al-Juhaimi, F., Ghafoor, K., Babiker, E. E., Osman, M. A., & Alqah, H. A. S. (2021). Effect of sonication times and almond varieties on bioactive properties, fatty acid and phenolic compounds of almond kernel extracted by ultrasound-assisted extraction system. *Journal Of Food Measurement & Characterization*, 15(3), 2481-2490. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00789-3>

Padilla, M. C., Curp, & De Tesis, A. (2020, 1 febrero). *Desarrollo de una mantequilla de almendras adicionada con mucílago de Aloe vera*. <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1453>

Parhizkary, M., Hasanpour, R., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2025). Spray-drying encapsulation of jujube extract: Enhancing bioactivity and stability via maltodextrin-based carriers with polysaccharides and proteins. *Carbohydrate*

Polymer Technologies And Applications, 100869.  
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100869>

Pietta P, Simonetti P, Gardana C, Mauri P. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of Ginkgo biloba flavonol and Camellia sinensis catechin metabolites. J Pharm Biomed Anal. 2000 Aug 1;23(1):223-6. doi: 10.1016/s0731-7085(00)00272-7. PMID: 10898173.

Prempeh, N. y. A., Nunekpeku, X., Murugesan, A., & Li, H. (2025). Ultrasound in the Food Industry: Mechanisms and Applications for Non-Invasive Texture and Quality Analysis. Foods, 14(12), 2057.  
<https://doi.org/10.3390/foods14122057>

Rahim, M. H. A., Hazrin-Chong, N. H., Harith, H. H., Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., & Sukor, R. (2023). Roles of fermented plant-, dairy- and meat-based foods in the modulation of allergic responses. *Food Science And Human Wellness*, 12(3), 691-701. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.09.002>

Rahman, M. M., & Lamsal, B. P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews In Food Science And*

Rasika, D. M., Vidanarachchi, J. K., Rocha, R. S., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Sant'Ana, A. S., & Ranadheera, C. S. (2020). Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. *Current Opinion In Food Science*, 38, 8-20.  
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.025>

Rastogi, Y. R., Thakur, R., Thakur, P., Mittal, A., Chakrabarti, S., Siwal, S. S., Thakur, V. K., & Saini, R. V. (2022). Food fermentation – Significance to public health and sustainability challenges of modern diet and food systems. *International Journal Of Food Microbiology*, 371, 109666.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109666>

- Reque, P. M., & Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends In Food Science & Technology*, 114, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>
- Richardson-Harman, N. J., Stevens, R., Walker, S., Gamble, J., Miller, M. R., Wong, M., & McPherson, A. (2000). Mapping consumer perceptions of creaminess and liking for liquid dairy products. *Food Quality And Preference*, 11(3), 239-246. [https://doi.org/10.1016/s0950-3293\(99\)00060-9](https://doi.org/10.1016/s0950-3293(99)00060-9)
- Rivas-Vela, C. I., Castaño-Tostado, E., Cardador-Martínez, A., Amaya-Llano, S. L., & Castillo-Herrera, G. A. (2023). Subcritical water hydrolysis for the obtention of bioactive peptides from a *grasshopper Spheerium purpurascens* protein concentrate. *The Journal Of Supercritical Fluids/ The Journal Of Supercritical Fluids*, 197, 105893. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2023.105893>
- Rodrigues, F., Cedran, M., Bicas, J., & Sato, H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. *Food Research International*, 137, 109682. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682>
- Roland, I. S., Aguilera-Toro, M., Nielsen, S. D., Poulsen, N. A., & Larsen, L. B. (2023). Processing-Induced Markers in Proteins of Commercial Plant-Based Drinks in Relation to Compositional Aspects. *Foods*, 12(17), 3282. <https://doi.org/10.3390/foods12173282>
- Russo, M. I., Abeijón-Mukdsi, M. C., Santacruz, A., Ross, R., Malo, A. L., Gauffin-Cano, P., & Medina, R. B. (2021). Spray dried lactobacilli maintain viability and feruloyl esterase activity during prolonged storage and under gastrointestinal tract conditions. *Journal Of Food Science And Technology*, 59(3), 1202-1210. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05125-1>

- Sarangapany, A. K., Murugesan, A., Annamalai, A. S., Balasubramanian, A., & Shanmugam, A. (2022). An overview on ultrasonically treated plant-based milk and its properties – A Review. *Applied Food Research*, 2(2), 100130. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100130>
- Shanuke, D. S., Ranasinghage, N. B. D. P., Illippangama, A. U., Kulathunga, J., & Bandara, M. D. (2025). Co-Encapsulation of Probiotics and Prebiotics: Techniques and Applications in Food Fortification. *Food Science & Nutrition*, 13(6). <https://doi.org/10.1002/fsn3.70426>
- Shiroodi, S. G., Mohammadifar, M. A., Gorji, E. G., Ezzatpanah, H., & Zohouri, N. (2012). Influence of gum tragacanth on the physicochemical and rheological properties of kashk. *Journal Of Dairy Research*, 79(1), 93-101. <https://doi.org/10.1017/s0022029911000872>
- Shori, A. B., & Zahrani, A. J. A. (2021). Non-dairy plant-based milk products as alternatives to conventional dairy products for delivering probiotics. *Food Science And Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.101321>
- Shori, A. B., Baba, A. S., & Muniandy, P. (2019). Potential Health-Promoting Effects of Probiotics in Dairy Beverages. In *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages: Volume 14: The Science of Beverages* (pp. 173–204). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816687-1.00005-9>
- Shori, A. B., Kee, L. A., & Baba, A. S. (2020). Total Phenols, Antioxidant Activity and Sensory Evaluation of Bread Fortified with Spearmint. *Arabian Journal For Science And Engineering*, 46(6), 5257-5264. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-05012-5>

- Silva, A. R., Silva, M. M., & Ribeiro, B. D. (2020). Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. *Food Research International*, 131, 108972. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108972>
- Tachie, C., Nwachukwu, I. D., & Aryee, A. N. A. (2023). Trends and innovations in the formulation of plant-based foods. *Food Production, Processing And Nutrition*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00129-0>
- Tamang, J. P., Kharnaior, P., Pariyar, P., Thapa, N., Lar, N., Win, K. S., Mar, A., & Nyo, N. (2021). Shotgun sequence-based metataxonomic and predictive functional profiles of Pe poke, a naturally fermented soybean food of Myanmar. *PLoS ONE*, 16(12), e0260777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260777>
- Tan JB, Lim YY. Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. *Food Chem.* 2015 Apr 1;172:814-22. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.141. Epub 2014 Oct 2. PMID: 25442625.
- Taşkın, B., & Bağdatlıoğlu, N. (2020). Influence of Conventional Fermentation on Antioxidant Activity and Phenolic Contents of Two Common Dairy Products: Yogurt and Kefir. *Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology*, 8(6), 1277-1282. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i6.1277-1282.3290>
- Tomishima, H., Luo, K. K., & Mitchell, A. E. (2022). The Almond (*Prunus dulcis*): Chemical Properties, Utilization, and Valorization of Coproducts. *Annual Review Of Food Science And Technology*, 13(1), 145-166. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-052720-111942>

- United States Department of Agriculture, USDA. (2019). USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://ndb.nal.usda.gov> Accessed 17 January 2019
- Vivas, E. M., Aponte, A. A., & Cock, L. S. (2023). Importancia de la encapsulación de probióticos: gelificación iónica y coacervación compleja como técnicas prometedoras para uso alimentario. *Biotecnología En el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 22(1), 105-123. <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v22.n1.2024.2223>
- Wang, Y., Yu, R., & Chou, C. (2002). Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. *Food Microbiology*, 19(5), 501-508. <https://doi.org/10.1006/fmic.2002.0506>
- Xie, M., Ma, Y., An, F., Yu, M., Zhang, L., Tao, X., Pan, G., Liu, Q., Wu, J., & Wu, R. (2023). Ultrasound-assisted fermentation for antioxidant peptides preparation from okara: Optimization, stability, and functional analyses. *Food Chemistry*, 439, 138078. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138078>
- Yada, S., Lapsley, K. G., & Huang, G. (2011). A review of composition studies of cultivated almonds: Macronutrients and micronutrients. *Journal Of Food Composition and Analysis*, 24(4-5), 469-480. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.007>
- Yuan, S., Li, C., Zhang, Y., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., & Yao, W. (2021). Ultrasound as an emerging technology for the elimination of chemical contaminants in food: A review. *Trends In Food Science And Technology*, 109, 374-385. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.048>
- Zahrani, A. J. A., & Shori, A. B. (2023). Viability of probiotics and antioxidant activity of soy and almond milk fermented with selected strains of probiotic

Lactobacillus spp. LWT, 176, 114531.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114531>

Zameer Hussain, S., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T., & Ahmad Bhat, T. (n.d.). Fruits Grown in Highland Regions of the Himalayas Nutritional and Health Benefits.

Zhao, J., Bhandari, B., Gaiani, C., & Prakash, S. (2021). Physicochemical and microstructural properties of fermentation-induced almond emulsion-filled gels with varying concentrations of protein, fat and sugar contents. *Current Research In Food Science*, 4, 577-587.  
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.08.007>

Zhu, Y., Li, D., & Wang, L. (2018). Dynamic rheological properties of peanut protein isolate and aggregation suspension and acid-induced gel. *Powder Technology*, 358, 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2018.08.052>