

# COLEGIO DE POSTGRADUADOS



INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

## CAMPUS CÓRDOBA

POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

**AMARANTO COMO ESTABILIZANTE DE UNA BEBIDA LÁCTEA**

**FERMENTADA**

José Peña Barrera

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO

2017

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS  
COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el (la) que suscribe José Peña Barrera, Alumno(a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del profesor(a) Dora A. Avalos de la Cruz, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis: Amaranto como estabilizante de una bebida láctea fermentada

Y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Profesor Consejero(a) o Director(a) de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Amatlán de los Reyes, Veracruz a 20 de Julio de 2017

  
Firma



Vo.Bo. del Profesor Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Amaranto como estabilizante de una bebida láctea fermentada**, realizada por el alumno **José Peña Barrera** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA

---

**Dra. Dora Angélica Avalos de la Cruz**

ASESOR

---

**Dr. J. Cruz García Albarado**

ASESORA

---

**Dra. Fabiola Sandoval Salas**

Amatlán de los Reyes, Veracruz. Julio de 2017.

# AMARANTO COMO ESTABILIZANTE DE UNA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

Jose Peña Barrera, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

## Resumen

Las bebidas lácteas fermentadas pueden contener aditivos y otros ingredientes funcionales. Los aditivos pueden ser de origen natural o sintético y se utilizan para aumentar la conservación, mejorar la apariencia, sabor o estructura. Los almidones modificados, elaborados principalmente de almidón de maíz y papa, son estabilizantes que forman geles viscosos, usados con frecuencia en yogures y helados. El objetivo fue tratar física y químicamente el grano de *Amaranthus hypochondriacus* L. para modificar su almidón y utilizarlo como aditivo funcional que confiera viscosidad y estabilidad a la sinéresis de una bebida láctea fermentada. Las características de las bebidas fueron: 9.7 a 11.5 °Dormic (°D) el día 1, 10.25 a 12.25 °D el día 15 y de 11.5 a 13 °D el día 30; el pH fue de 3.8 el día 1, de 3.85 a 3.9 el día 15 para la adicionada con amaranto tratado térmicamente (ATT) y las restantes, y de 4 el día 30. La viscosidad aumentó de 700 a 1500 mPa.s con la adición de ATT a 70°C, de 600 a 1000 mPa.s el testigo, y presentaron un flujo no newtoniano. La sinéresis fue 10 % mayor en las muestras de Carboximetilcelulosa (CMC) respecto al testigo; bebidas adicionadas con ATT mostraron menor sinéresis que el testigo. El conteo de bacterias ácido lácticas fue de 19.5 a 72.7 x10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup> para el testigo, de 25 a 78 x10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup> para la CMC y de 92 a 210 x10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup> para las muestras con ATT. El almidón modificado de amaranto confirió características deseadas de estabilidad a las bebidas fermentadas e influyó en el crecimiento de la bacteria probiótica.

**Palabras clave:** almidón modificado, *Amaranthus hypochondriacus* L., aditivos.

# AMARANTH AS STABILIZER OF A FERMENTED DAIRY DRINK

Jose Peña Barrera, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

## Abstract

Fermented dairy drinks may contain additives and other functional ingredients. The additives may be of natural or synthetic origin and are used to enhance preservation, appearance, taste or structure. Modified starches, mainly made from corn and potato starch, are stabilizing additives that form viscous gels, in dairy products are often used in yogurt and ice cream. The objective was to physically and chemically treat the *Amaranthus hypochondriacus* L. grain to modify its starch and to use it as a functional additive that confers viscosity and stability to the syneresis of a fermented milk drink. The characteristics of the drinks were: 9.7 to 11.5 °Dormic (°D) on day 1, 10.25 to 12.25 °D on day 15 and 11.5 to 13 °D on day 30; The pH was 3.8 on day 1, from 3.85 to 3.9 on day 15 for addition with thermally treated amaranth (ATT) and the remaining ones, and of 4 on day 30. The viscosity increased from 700 to 1500 mPa.s with the addition of ATT at 70 °C, from 600 to 1000 mPa.s the control, and presented a non-Newtonian flow. The syneresis was 10 % higher in the carboxymethylcellulose (CMC) samples than the control; drinks added with ATT showed lower syneresis than the control. The lactic acid bacteria count was 19.5 to 72.7 x10<sup>7</sup> CFU mL<sup>-1</sup> for the control, from 25 to 78 x10<sup>7</sup> CFU mL<sup>-1</sup> for CMC and from 92 to 210 x10<sup>7</sup> CFU mL<sup>-1</sup> for samples with ATT. Modified amaranth starch conferred desired stability characteristics to fermented beverages and influenced the growth of probiotic bacteria.

**Keywords:** modified starch, *Amaranthus hypochondriacus* L., additives.

## DEDICATORIA

A toda mi familia que cerca o lejos ha estado conmigo...

Mis padres Felicitas y Galo, mis hermanos Fernando, Dulce, y a todas las personas que con o sin ningún parentesco hemos formado esta gran pequeña familia y que han estado conmigo en esta aventura de mi vida, mis cuñados (Rosa, Julio), sobrinos (Jul, Mari, Jaimie, Caro) y tíos.

A mi hermano Fidel y su familia los estimo y quiero y gracias por todo esto también son parte aunque se encuentren lejos.

A mis gran amiga Jessica, siempre juntos a pesar de los años.

A Braulio, aunque quizá no lo crees relevante, sabes que siempre me has apoyado en los momentos, tal vez sea pasajera la amistad pero los recuerdos prevalecen.

A mis compañeros a quienes recordaré en grandes momentos Susan, Sonia, Miriam, Eutiquio, Hugo, Manuel, Jesus Vianey, Cheli, Noema, Carmen.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por contribuir a mi crecimiento profesional.

Al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, por acompañar mi formación profesional, proceso en el que aprendí que el crecimiento intelectual va acompañado del personal. A la LGAC2 Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable.

A la Dra. Dora Angélica Avalos de la Cruz, por su confianza y acompañamiento en mi proceso de formación de postgrado.

Al MC. Carlos G. García García un agradecimiento especial, por enseñarme que ignoramos lo que podemos llegar a sembrar en una persona.

Al Dr. J. Cruz García Albarado, a quien tuve la oportunidad de conocer y de compartir grandes aventuras en un entrenamiento.

A la Dra. Fabiola Sandoval Salas, por su asesoría y las facilidades prestadas en el Instituto Tecnológico Superior de Perote.

A los profesores del CP-Córdoba, especialmente a los Drs. Roselia Servín, Juan Salazar, Juan A. Pérez, por la oportunidad de convivir.

A la Ing. Natali Gómez Falcón, por su apoyo en la fase experimental.

Al Dr. Alfredo Cruz Orea, del área de Física del CINVESTAV Unidad Zacatenco, por su gran apoyo y enseñanzas en el desarrollo de este proyecto.

## CONTENIDO

Resumen .....	iv
Abstract .....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS .....	vii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 El sector lechero nacional e internacional .....	4
2.2 Productos lácteos fermentados.....	6
2.2.1 Probióticos en productos lácteos .....	10
2.2.2 Bacteriocinas producidas por probióticos .....	15
2.2.3 Prebióticos y simbióticos .....	17
2.3 Aditivos en la industria de alimentos .....	19
2.3.1 Los estabilizantes en la industria láctea .....	21
2.3.2 Los almidones modificados como estabilizantes .....	25
2.3.3 Procesos de modificación del almidón nativo .....	25
2.4 Modificación física del almidón.....	26
2.4.1 Modificación química .....	28
2.5 Aspectos generales del <i>Amaranthus</i> spp. y <i>A. hypochondriacus</i> .....	29
2.5.1 Distribución geográfica .....	29



2.6	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> .....	30
2.7	Composición química de la semilla de <i>Amaranthus</i> spp. ....	31
2.7.1	Proteínas .....	31
2.7.2	Aminoácidos .....	31
2.7.3	Carbohidratos .....	32
2.7.4	Azúcares.....	32
2.7.5	Lípidos .....	33
2.7.6	Minerales y vitaminas .....	33
3.	JUSTIFICACIÓN.....	34
4.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	35
5.	HIPÓTESIS.....	36
6.	OBJETIVOS.....	36
7.	MATERIALES Y MÉTODOS..... <b>¡Error! Marcador no definido.</b>	
7.1	Ubicación del trabajo de investigación .....	37
7.2	Modificación del grano .....	37
7.2.1	Modificación ácida .....	38
7.2.2	Gelatinización .....	39
7.2.3	Hinchamiento.....	39
7.3	Análisis del amaranto modificado y nativo .....	40
7.3.1	Determinación de humedad.....	40

7.3.2	Determinación de grasa.....	40
7.3.3	Determinación de fibra cruda.....	41
7.3.4	Determinación de proteína .....	41
7.3.5	Determinación de cenizas .....	41
7.3.6	Determinación de almidón total .....	42
7.3.7	Poder de hinchamiento y porcentaje de solubilidad.....	43
7.3.8	Propiedades de gelatinización .....	44
7.3.9	Observación en microscopía de barrido .....	44
7.4	Proceso de elaboración de la bebida láctea fermentada probiótica con grano de amaranto como estabilizante .....	45
7.5	Caracterización de la bebida láctea .....	47
7.5.1	Determinación de acidez titulable y pH.....	47
7.5.2	Determinación de viscosidad.....	48
7.5.3	Grado de sinéresis.....	49
7.5.4	Determinación de microorganismos lácticos viables .....	49
7.6	Diseño experimental del análisis sensorial.....	50
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	51
8.1	Composición química proximal .....	51
8.2	Contenido de almidón total.....	52
8.3	Poder de hinchamiento y solubilidad.....	53

8.4	Calor específico .....	55
8.5	Microestructura de amaranto en microscopio de barrido .....	58
8.6	Acidez y pH de la bebida láctea .....	62
8.7	Viscosidad en bebida láctea con ATT .....	66
8.8	Grado de sinéresis .....	69
8.9	Análisis microbiológicos .....	71
9.	CONCLUSIONES .....	72
10.	LITERATURA CITADA .....	73
11.	ANEXOS.....	79

## Lista de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Denominación de la leche fermentada de acuerdo al microorganismo o microorganismos utilizados en su fermentación (NMX-F-COFOCALEC-2012).....	7
<b>Cuadro 2.</b> Especies por género de microorganismos probióticos conocidos (Syngai et al., 2016; Vinderola, 2014).....	13
<b>Cuadro 3.</b> Clasificación de bacteriocinas y probiótico involucrado (Ness, 1996)..	17
<b>Cuadro 4.</b> Estabilizantes según origen y estructura (Li y Nie, 2016). .....	22
<b>Cuadro 5.</b> Caracterización y propiedades de estabilizantes alimenticios. ....	24
<b>Cuadro 6.</b> Tipos de modificaciones físicas del almidón nativo.....	27
<b>Cuadro 7.</b> Agujas y factores de conversión por cada velocidad de cizalla. ....	48
<b>Cuadro 8.</b> Análisis proximal en base húmeda del amaranto nativo y amaranto tratado térmicamente (AT). .....	51
<b>Cuadro 9.</b> Almidón en <i>A. hypocondriacus</i> con diversos tratamientos.....	52
<b>Cuadro 10.</b> Absorción de agua y solubilidad del almidón de amaranto. ....	54
<b>Cuadro 11.</b> pH de yogur suplementado con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C y carboximetilcelulosa (CMC).....	65
<b>Cuadro 12.</b> Bacterias lácticas en yogur probiótico con amaranto.....	71
<b>Cuadro 13.</b> Análisis estadístico de la acidez de diferentes tratamientos en día 1,15 y 30, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes. ....	79
<b>Cuadro 14.</b> Análisis estadístico de la viscosidad de diferente tratamiento de leche fermentada a diferentes velocidades aguja 5, C.V. Coeficiente de	

variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes.

..... 80

**Cuadro 15.** Análisis estadístico de la viscosidad de diferente tratamiento de leche fermentada a diferentes velocidades aguja 6, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes.

..... 81

**Cuadro 16.** Análisis estadístico de sinéresis de diferentes tratamientos de leches fermentadas día 1, 15 y 30, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes..... 82

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Producción nacional de leche de bovino por Estado (SIAP-SAGARPA, 2015).....	4
<b>Figura 2.</b> Producción mundial de leche fluida de bovino, por país (USDA, 2015). .	5
<b>Figura 3.</b> Diagrama de flujo del proceso industrial de yogur o leche fermentada. Elaboración propia con base en la NOM-243-SSA1-2010 y Duran-Ramírez, 2012.....	8
<b>Figura 4.</b> Distribución del género <i>Amaranthus</i> en México (Espitia-Rangel, 2010).	30
<b>Figura 5.</b> Diagrama de flujo de modificación química del amaranto. ....	38
<b>Figura 6.</b> Amaranto en agua a diferentes temperaturas. ....	39
<b>Figura 7.</b> Microscopio electrónico de barrido marca JEOL del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Imagen propia.....	45
<b>Figura 8.</b> Diagrama de flujo del proceso de elaboración de bebidas lácteas con amaranto como estabilizante. ....	46
<b>Figura 9.</b> Atemperado de la leche para posterior inoculación.....	47
<b>Figura 10.</b> Almidón soluble de amaranto nativo-hidrolizado-tratado térmicamente. ....	55
<b>Figura 11.</b> Termogramas de ASC de a) amaranto nativo y tratado térmicamente b) 60 °C, c) 70°C y d) 80 °C. ....	56
<b>Figura 12.</b> Almidón nativo de amaranto en microscopio electrónico de barrido (SEM).....	59

<b>Figura 13.</b> A. hypochondriacus observado a 10 micras: a) amaranto nativo; b) amaranto tratado térmicamente (ATT) a 60 °C; c) ATT a 70 °C y d) ATT a 80 °C.....	60
<b>Figura 14.</b> Almidón de amaranto nativo y extruido (Rodriguez et al., 2015). .....	61
<b>Figura 15.</b> Acidez titulable en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B). Día 1. ....	63
<b>Figura 16.</b> Acidez titulable en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B). Día 15. ....	63
<b>Figura 17.</b> Acidez titulable en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B). Día 30. ....	64
<b>Figura 18.</b> Viscosidad con aguja n° 5 en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B).....	67
<b>Figura 19.</b> Viscosidad con aguja n° 6 de bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B).....	68
<b>Figura 20.</b> Sinéresis (1, 15 y 30 días) de bebida láctea adicionada con amaranto. ....	70

## 1. INTRODUCCIÓN

El amaranto es una planta originaria de México, se cultiva desde el tiempo de los Aztecas, era uno de los principales granos en su alimentación y tenía una importancia religiosa. Se encuentra ampliamente distribuido en el país; también se cultiva en los Himalayas en Nepal y en el sur de la India, donde se han formado centros secundarios de diversificación (Mapes y Espitia, 2010).

En la América precolombina se cultivaron tres especies de amaranto para la alimentación humana: *A. caudatus* en la región de los Andes, *A. cruentus* en América Central y *A. hypochondriacus* en México (Espitia, 1992). Estas especies fueron descritas y nombradas por Linneo a partir de formas ornamentales cultivadas en los jardines europeos durante el siglo XVIII (Sauer, 1950).

El género *Amaranthus* se agrupa en la familia Amaranthaceae, que comprende 60 géneros y cerca de 800 especies de hierbas anuales de origen tropical, que se adaptan bien a climas templados. Sus principales centros de distribución son los trópicos de América y la India, aun cuando en los trópicos de África y Australia existe un importante número de especies (Sauer, 1972). Es una planta con amplia adaptabilidad en zonas áridas de México, con requerimientos mínimos para su crecimiento y desarrollo, presenta un mejor desarrollo cuando las temperaturas diarias alcanzan al menos 21 °C. La mayoría de las semillas han mostrado una germinación óptima de 16 a 35 °C (Costea y DeMason, 2001). Las semillas de amaranto germinan con buena humedad en el suelo, una vez establecidas las plántulas, pueden crecer bien con limitantes de agua.



El grano posee propiedades nutritivas por la presencia de aminoácidos como la lisina y leucina, vitaminas, minerales, almidón, antioxidantes y proteínas como albúminas, globulinas, prolaminas y glutaminas (Becker *et al.*, 1981); lo que hace del amaranto un alimento completo que puede satisfacer las deficiencias nutricionales de la población y un producto con amplias oportunidades de diversificación, como ingrediente principal o como aditivo.

El almidón de *A. hypochondriacus* comparado con el de trigo presenta mucho menos amilosa, capacidad de expansión baja, alta solubilidad, gran capacidad de retención de agua y alto rango de temperatura de gelatinización (Singhal y Kulkarni, 1988), cualidades apropiadas para formar sustancias gelificantes y estables.

La semilla de amaranto tiene alto contenido de almidón. Los almidones modificados de distintas fuentes como el maíz, forman parte de los principales estabilizantes para productos lácteos. El almidón de la semilla de amaranto representa una alternativa para enriquecer productos alimenticios, se ha observado que es similar al almidón ceroso de maíz en cuanto a su poder de hinchamiento. El amaranto contiene los dos tipos de almidón, el ceroso y el normal (Lorenz, 1981); los gránulos del almidón de maíz, trigo y arroz son más grandes que los del amaranto.

Los estabilizantes concentran altas cantidades de agua en relación a su peso, esto favorece el uso de concentraciones muy bajas que no afectan significativamente las propiedades nutritivas de los alimentos a los que se agregan (Bruce y Steven, 2009). Los estabilizantes forman dispersiones coloidales en el agua y sus efectos sobre la movilidad de la misma se derivan de un alto peso molecular y compleja estructura

muy ramificada. Las moléculas individuales o partículas de un estabilizante interactúan con el agua y cambian el comportamiento de la misma.

Los aspectos secundarios que afectan la aceptabilidad de un alimento o bebida, son la cristalización de componentes como azúcares, la liberación de sabor, la viscosidad/grosor y la conservación de características como la textura durante el periodo de anaquel.

El almidón es ampliamente utilizado para el control del agua en alimentos. Los almidones nativos de diversas fuentes son antiguos ingredientes de control del agua en productos lácteos como yogures, quesos y helados. Las propiedades funcionales de los almidones se han desarrollado considerablemente por modificaciones químicas y físicas y el desarrollo de nuevas variedades de granos originarios (Ashogbon y Akintayo, 2014).

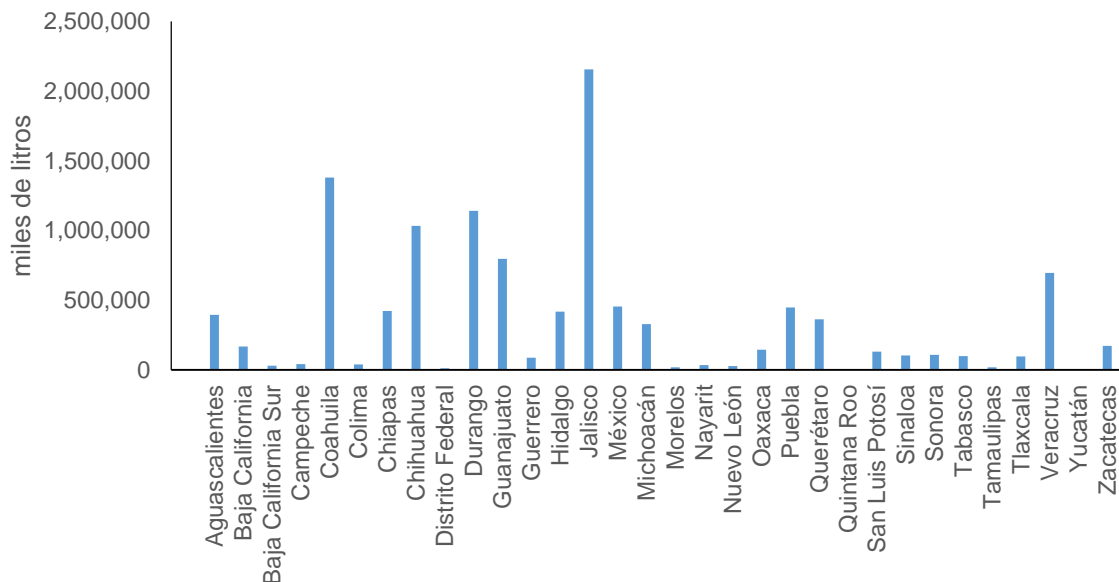
El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar las propiedades estabilizantes del almidón modificado de amaranto en una bebida láctea probiótica y sus características físicas y químicas que le confiere.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 El sector lechero nacional e internacional

Se define como leche a la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida de uno o más ordeños, sin adición o extracción de compuestos, destinada al consumo en forma líquida o procesada (Codex Alimentarius, 1999).

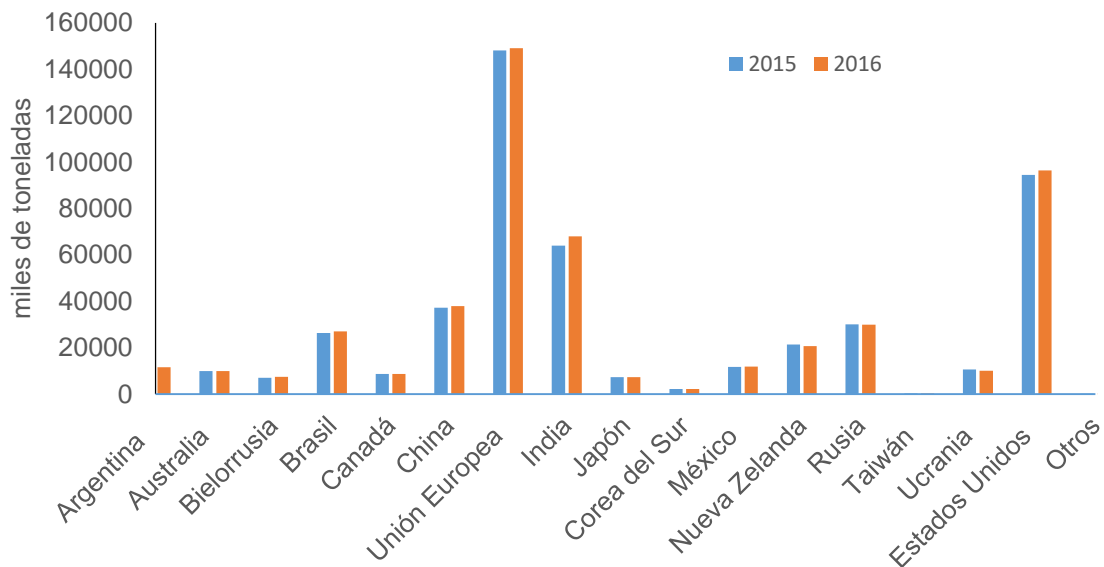
En 2015 la producción de leche en México fue de 11.4 millones de toneladas, con un valor de la producción de 67 billones de pesos, y un incremento de 2.4 % respecto al año anterior. El crecimiento del sector lechero está relacionado con el aumento poblacional e influenciado por factores como el económico. Los Estados con mayor producción de leche son Jalisco, Coahuila y Durango; Veracruz ocupa el sexto lugar con 695 762 t. Esta tendencia indica que el sector seguirá creciendo (SIAP-SAGARPA, 2015).



**Figura 1.** Producción nacional de leche de bovino por Estado (SIAP-SAGARPA, 2015).

En 2015, México ocupó la posición 9 en la producción mundial de leche, dos de cada cien litros que se producen en el mundo son de origen mexicano.

La producción mundial de leche bovina en 2015 fue de 481.5 millones de toneladas; la Unión Europea es el principal productor con 30.7 %, seguido de Norteamérica con 23.9 %, Asia 22.6 %, Europa del Este 8.5 %, América del Sur 7.8 % y Oceanía 6.5 %. El principal país productor, después de la Unión Europea es Estados Unidos de América, después India y China, como se muestra en la figura 2 (SIAP-SAGARPA, 2016; USDA, 2015).



**Figura 2.** Producción mundial de leche fluida de bovino, por país (USDA, 2015).

El consumo de leche y productos lácteos en países desarrollados es superior que en los países en desarrollo; sin embargo, en estos últimos se aprecia un notable incremento desde 1960. El consumo es alto, superior a 150 kg per cápita año<sup>-1</sup>, en Europa, Estados Unidos de América, Argentina, Costa Rica, Australia, Israel,

Armenia, Kirguistán y Pakistán. México, la India, Japón, Nueva Zelandia, Irán, otros países de América Latina, África y Oriente, muestran un consumo medio, de 30 a 150 kg per cápita año<sup>-1</sup>. Un consumo bajo, inferior a 30 kg per cápita año<sup>-1</sup>, se observa en Vietnam, Senegal, África Central y la mayor parte de Asia (OCDE-FAO, 2014).

## **2.2 Productos lácteos fermentados**

El Codex Alimentarius (1999) define producto lácteo al obtenido después de un proceso de elaboración de la leche, puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración. La diversidad de productos lácteos varía entre regiones y países, según los hábitos alimentarios, la tecnología disponible, la demanda de mercado y las circunstancias sociales y culturales.

El yogur es un gel de apariencia viscosa, resultante de la acidificación microbiana de la leche. Intervienen en su fermentación ácido láctica las bacterias *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*, las cuales deben encontrarse en relación 1:1 para una acción simbiótica efectiva (Salvatierra *et al.*, 2004).

Existe gran variedad de yogures que incluyen dichas bacterias y algún probiótico, la norma oficial mexicana NOM-181-SFCI-2010 y la OMS-FAO (2001) definen el yogur como el producto de la fermentación de la leche, estandarizada o no, por medio de la acción de microorganismos específicos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, que reducen el pH. Estas bacterias

lácticas, la primera se desarrolla de 42 a 50 °C y proporciona la acidez característica al yogur; la segunda se reproduce entre 37 y 42 °C y otorga el aroma característico del yogur.

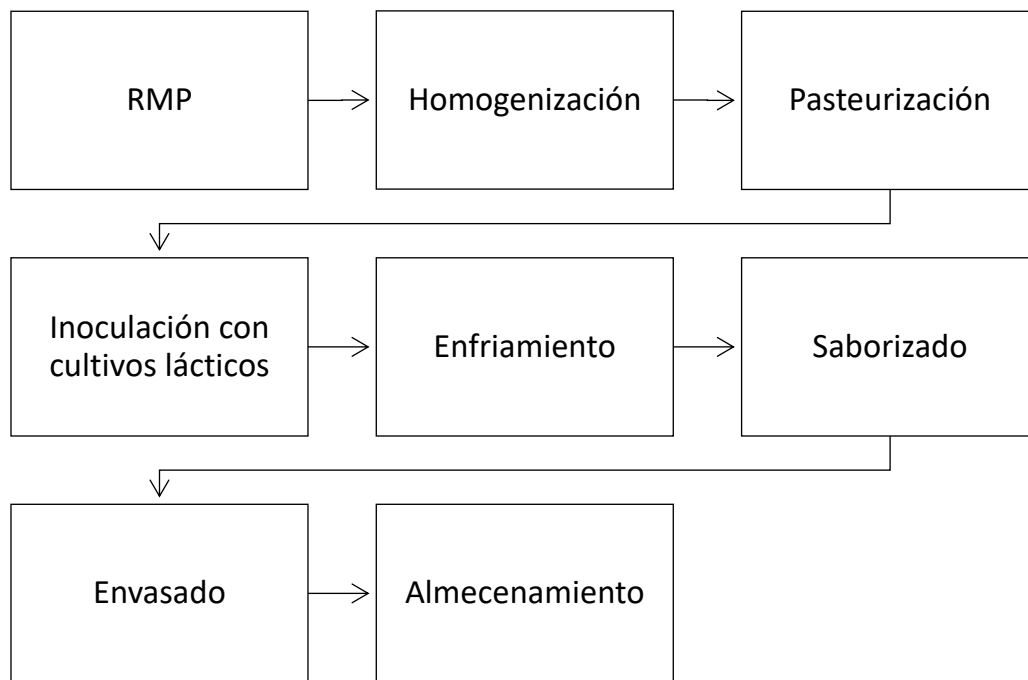
De acuerdo a la textura final, el yogur puede ser aflanado o gel, batido de consistencia viscosa, líquido o bebible (Hernández, 2004). En la industria de los alimentos se elaboran productos alimenticios con uso de microorganismos vivos o procesos biológicos y enzimáticos. Los productos lácteos fermentados más comunes y el microorganismo relacionado, se muestra en el siguiente cuadro.

**Cuadro 1.** Denominación de la leche fermentada de acuerdo al microorganismo o microorganismos utilizados en su fermentación (NMX-F-COFOCALEC-2012).

Denominación	Microorganismos utilizados
Yogur, Yogurt o Yoghurt	Cultivos simbióticos de <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus delbrueki</i> subesp. <i>bulgaricus</i>
Leche acidófila	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Kéfir	Gránulos de kéfir <i>Lactobacillus kéfir</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> y <i>Acetobacter</i> . Constituyen levaduras fermentadoras de lactosa: <i>Kluyveromyces marxianus</i> y levaduras fermentadoras sin lactosa: <i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>S. cerevisiae</i> y <i>S. exiguus</i> .
Kumis	<i>Lactobacillus delbrukii</i> subesp. <i>bulgaricus</i> y <i>Kluyveromyces marxianus</i> .
Jocoque	Baterías lácticas mesófilas productoras de ácido láctico.

El consumo per cápita de yogur en México es de 8.5 kg año<sup>-1</sup>, en países europeos como Francia y España es de 26 a 36 kg de yogur por año. El yogur es una de las áreas más innovadoras de los productos lácteos, el constante lanzamiento de nuevos sabores, texturas y presentaciones, así como las ganancias que genera, permiten el incremento de su mercado en México (Euromonitor Internacional, 2016).

El proceso general de elaboración industrial del yogur o bebida láctea fermentada consiste regularmente de las etapas que se muestran en la figura 3.



**Figura 3.** Diagrama de flujo del proceso industrial de yogur o leche fermentada. Elaboración propia con base en la NOM-243-SSA1-2010 y Duran-Ramírez, 2012.

Selección, filtración y estandarización de la leche (RMP). La leche se filtra a través de una tela fina para eliminar cuerpos extraños, enseguida se analiza para evaluar si cuenta con las condiciones óptimas de proceso, posteriormente se estandariza

con grasa y leche en polvo descremada para aumentar el contenido de sólidos totales que contribuyen a la consistencia final del yogur.

Homogenización. Permite estabilidad a la materia grasa y otorga viscosidad, la leche pasa por un homogenizado de 100 a 200 kg cm<sup>-2</sup>, a 65°C.

Pasteurización. La mezcla se somete a una temperatura de 63 °C por 30 minutos (pasteurización lenta) o a 72 °C por 15 segundos (pasteurización rápida), se puede seleccionar otra relación de tiempo y temperatura con efecto equivalente, enseguida se enfría a 4°C.

Inoculación e incubación. Se agrega 1 % de cultivo láctico, el cual puede ser sustituido por 2 a 3 % de un yogur natural si no se cuenta con cultivo madre, enseguida se agita lentamente. El cultivo láctico debe activarse previamente, puede comprarse inicialmente y una vez iniciado el proceso pueden mantenerse cultivos propios, o comprarlos cada vez que sea necesario. Posterior a la inoculación se incuba a 42 o 43 °C o según indicaciones del cultivo comercial, por 3 a 4 horas o cuando la acidez haya alcanzado 0.70 %, la leche se coagula.

Saborizado y batido. El saborizado del yogur se realiza con diversidad de aditivos, naturales o artificiales, se agregan edulcorantes, mermelada de frutas, color, sabor, cereales, vegetales, purés, jugos, de acuerdo a especificaciones locales y del producto final. Se añaden agitando lentamente para homogenizarlo.

Enfriamiento o refrigeración. El yogur se deja enfriar de manera gradual a temperatura ambiente para evitar el desuerado, enseguida se lleva a temperatura de refrigeración a 4 °C para detener la fermentación.



Envasado. El producto se vierte en frascos de vidrio o plástico esterilizados, y se almacena por un periodo de 7 a 45 días de acuerdo al tipo de envase, previo análisis de vida de anaquel que permita conservar las características óptimas del producto.

### **2.2.1 Probióticos en productos lácteos**

El término probiótico está formado con raíces griegas, significa "alimento que contiene microorganismos vivos no patógenos", sus componentes léxicos son el prefijo pro (adelante, antes), bios (vida), el sufijo tico (relativo a). Esta palabra no está registrada en el diccionario de la Real Academia Española. Es un término relativamente nuevo que significa "a favor de la vida" y se le asigna a las bacterias que tienen un efecto de beneficio al ser humano y a los animales (FAO y OMS, 2006). El concepto se introdujo por primera vez por Vergin, con su estudio sobre los efectos nocivos de los antibióticos y otras sustancias microbianas sobre la población microbiana intestinal (Pandey, 2007). Metchnikoff (1907) y Tissier (1906) fueron los primeros que realizaron propuestas científicas de uso de bacterias probióticas; el término se consideró después de 1960 para designar las sustancias producidas por microorganismos que promovían el crecimiento de otros microorganismos (Lilly y Stillwell, 1965).

Actualmente se usa el concepto probiótico en un alimento con microorganismos vivos, que al ser ingeridos en cantidades adecuadas, producen efectos benéficos a la salud, adicionales a su valor nutricional. Fuller (1989) define probiótico como un complemento alimenticio a base de microorganismos vivos y vitales que produce efectos benéficos sobre el organismo animal, mejorando el equilibrio microbiano intestinal.

Un aspecto importante a considerar es la inocuidad en el uso de probióticos. La FAO y la OMS (2006) definieron principios generales y criterios prácticos como directrices de prueba para los microorganismos probióticos, que permitieran demostrar que no hay un riesgo colateral de enfermedad, sino que hay un beneficio significativo para la salud del ser humano, y reconocer que algunas especies pueden requerir una evaluación más detallada que otras. La evaluación de la inocuidad exige que se realicen estudios en seres humanos y sobre aspectos relativos al uso previsto de la cepa probiótica.

Los lactobacilos se han utilizado desde hace tiempo como probióticos sin riesgo para los seres humanos, lo cual es prueba de su inocuidad (Naidu *et al.*, 1999; Saxelin *et al.*, 1996). Además, no se han encontrado propiedades patógenas o virulentas en lactobacilos, bífidobacterias o lactococos (Aguirre y Collins, 1993). A pesar de ello, algunas cepas de lactobacilos han sido relacionadas con efectos perjudiciales, como raros casos de bacteremia (Saxelin *et al.*, 1996). Sin embargo, estudios epidemiológicos sobre casos notificados de bacteremia causada por lactobacilos, han mostrado que no existe aumento de su incidencia cuando aumenta la utilización de lactobacilos probióticos (Salminen *et al.*, 2001).

La microbiota intestinal es un ecosistema complejo de diversas especies de bacterias en relación simbiótica; para mantener el organismo sano, es necesario preservar este equilibrio bacteriano. En el intestino se produce la asimilación de los nutrientes y la eliminación de los residuos metabólicos, energéticos y neurohormonales. Para una higiene intestinal eficaz es necesario, por lo tanto, cuidar atentamente la alimentación; es aconsejable consumir alimentos llamados

probióticos como el yogur, que contengan microorganismos benéficos en condiciones de perfecta vitalidad y capaces de integrarse a la flora autóctona del organismo que puedan proporcionar sus efectos benéficos (*Syngai et al., 2016*).

El siguiente cuadro muestra los microorganismos probióticos frecuentes.

**Cuadro 2.** Especies por género de microorganismos probióticos conocidos (Syngai *et al.*, 2016; Vinderola, 2014).

Género						
<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	Otras especies
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L. lactis</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. lactis</i>	<i>B. longum</i>	<i>L. cremoris</i>	<i>S. lactis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. coagulans</i>	<i>Saccharomyces boulardi</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>L. diacetylactis</i>				<i>Leuconosctoc</i> spp.
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. breve</i>					<i>Carnobacterium divergens</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. lactis</i>					
<i>L. brevis</i>	<i>B. adolescentis</i>					
<i>L. reuteri</i>						
<i>L. helveticus</i>						
<i>L. plantarum</i>						
<i>L. johnsonii</i>						
<i>L. salivarius</i>						

### 2.2.1.1 Bifidobacterias

Las bifidobacterias son algunos de los grupos predominantes de bacterias anaerobias cultivables dentro del tracto gastrointestinal humano y animal, de las primeras en colonizar este espacio humano, promueven la salud al proteger contra agentes patógenos con la producción de antimicrobianos (bacteriocinas), el bloqueo de la adhesión de patógenos y la modulación de la respuesta inmune (Rastall *et al.*, 2005). De ahí que ciertas bifidobacterias son utilizadas comercialmente como microorganismos probióticos. El crecimiento y la actividad metabólica de las bacterias probióticas, incluidas las bifidobacterias, se pueden estimular selectivamente por diversos carbohidratos de la dieta, llamados "prebióticos". Se estima que más del 8 % de los genes identificados en estudios de bifidobacterias participan en el metabolismo de hidratos de carbono, lo que representa cerca de 30% más de lo que otros microorganismos gastrointestinales (GIT) usan tales compuestos (Ventura *et al.*, 2007).

### 2.2.1.2 Propiedades de las bifidobacterias

El género *Bifidobacterium* fue de los primeros en colonizar el tracto gastrointestinal humano y ejercen beneficios positivos a la salud del anfitrión. Debido a sus propiedades promotoras de la salud, las bifidobacterias se han incorporado en diversos alimentos funcionales como ingredientes activos. Algunas propiedades benéficas a la salud es el tratamiento y prevención del cáncer colorectal, diarreas, enterocolitis necrosante, estreñimiento, colitis ulcerativa, esta última en conjunto con cepas de *Lactobacillus* y *S. thermophilus*, (O'Callaghan and Van Sinderen, 2016).

La microbiota del tracto gastrointestinal se requiere para la digestión óptima de los alimentos y el desarrollo de resistencia a patógenos (resistencia a la colonización). Componentes de la microbiota del tracto gastrointestinal son reconocidos como reguladores de la respuesta inmune del huésped, incluyen otros miembros de la microbiota, así como nemátodos parásitos. La regulación inmune de la microbiota GIT ayuda en la generación de antimicrobianos para defensas inmunitarias y promueve la colonización persistente, y como efecto secundario puede prevenir o suprimir trastornos inmunológicos resultado de respuestas inapropiadas a antígenos inocuos, como alergias, colitis o autoinmunidad (Kyburz y Mueller, 2016).

### **2.2.2 Bacteriocinas producidas por probióticos**

Los probióticos proporcionan sabor y textura e incrementan el valor nutricional de los alimentos, desde hace décadas se utilizan en la industria alimenticia como bioconservadores debido a la producción de bacteriocinas y otras sustancias que ejercen acción antibacteriana, lo que representa una alternativa para disminuir el uso de químicos y antibióticos en los alimentos (Monroy *et al.*, 2009).

Existen numerosas bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas (BAL). Dada la importancia de los probióticos en la actualidad, como alimentos funcionales, y en particular las bacteriocinas que producen, diversos autores han propuesto clasificaciones. Ness (1996), propone la siguiente clasificación de dichas sustancias con base en sus características bioquímicas y genéticas y propiedades antimicrobianas:

Clase I: Lantibióticos. Péptidos pequeños activos a nivel de membrana, contienen algunos aminoácidos poco comunes como lantionina, b-metil-lantionina y dihidroalanina que se forman por modificaciones posteriores al proceso de la traducción. La formación de aminoácidos no comunes se explica por la deshidratación de serina y treonina, con la adición de átomos de azufre de la cisteína a los dobles enlaces de los deshidroaminoácidos. Ejemplo, la nisina.

Clase II: No lantibióticos. Bacteriocinas de peso molecular variable, contienen aminoácidos regulares. Se identifican tres subclases:

- Clase IIa. Péptidos activos contra *Listeria*, tienen la secuencia consenso en la región N-terminal TGNGVXC. Ejemplos: pediocina PA-1 y la sakacina P.
- Clase IIb. Formadores de complejos y de poros, consisten en dos péptidos diferentes necesarios para la mejor actividad antimicrobiana. Ejemplos: lactococcina G y plantaricinas EF y JK.
- Clase IIc. Péptidos pequeños, termoestables, no modificados, se transportan mediante péptidos líder. Ejemplos: divergicina A y acidocina B.

Clase III. Péptidos grandes, mayores de 30 kDa. Ejemplos: helveticinas J y V, acidofilicina A, lactacinas A y B.

En el siguiente cuadro se resume la clasificación de Ness (1996) y los microorganismos relacionados.

**Cuadro 3.** Clasificación de bacteriocinas y probiótico involucrado (Ness, 1996).

Bateriocina	Clase	Microorganismo probiótico
Nisina	I	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
Pediocina PA-1	IIa	<i>Pediococcus acidilactici</i> y <i>Lactobacillus plantarum</i> WHE92
Pediocina JD	IIa	<i>Pediococcus acidilactici</i> JD1-23
Sakacina A	IIa	<i>Lactobacillus sake</i> 706
Sakacina P	IIa	<i>Lactobacillus sake</i> LTH673
Curvacina A	IIa	<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH1174
Mesentericina Y105	IIa	<i>Leuconosctoc mesenteroides</i>
Plantaricina E/F	IIb	<i>Lactobacillus plantarum</i> C11
Lactococcina A	IIb	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
Lactococcina B	IIb	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 9B4
Lactacina F	IIb	<i>Lactobacillus jonhsonii</i>
Divergicina	IIc	<i>Carnobacterium divergens</i> LV13
Helveticina	III	<i>Lactobacillus helveticus</i>

### 2.2.3 Prebióticos y simbióticos

La FAO y la OMS (2006) definen los prebióticos como componentes alimenticios que confieren beneficios a la salud del huésped, asociado a la modulación de la microbiota. Los prebióticos forman un grupo de diversos ingredientes de hidratos de carbono, cuyo origen, perfiles de fermentación y dosis requeridas con efecto en la



salud aún se evalúan. Algunas fuentes de prebióticos son la leche materna, la soya, fuentes de inulina (alcachofa de Jerusalén, raíces de achicoria, otros), avena cruda, trigo integral, cebada integral, yacón, carbohidratos no digeribles, y oligosacáridos no digeribles (Peña, 2007).

Los prebióticos como el factor bifidogénico, oligosacáridos no digeribles (inulina, oligofruktosa y galactooligosacáridos). La inulina y la pectina exhiben varios beneficios a la salud, como reducción de la prevalencia y duración de la diarrea, el alivio de la inflamación y otros síntomas asociados al trastorno intestinal y efectos protectores para prevenir el cáncer de colon, mejoran la biodisponibilidad y la absorción de minerales, reducen factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, promueve la saciedad por tanto la pérdida de peso y prevención de la obesidad (Pokusaeva *et al.*, 2011).

La viabilidad de los microorganismos vivos es variable en el intestino, de ahí su conveniente protección y desarrollo selectivo en el tracto gastrointestinal. Gibson y Robertfroid (1995) definen los prebióticos como ingredientes alimentarios no digeribles, que estimulan selectivamente el desarrollo y actividad de una o varias especies bacterianas en el intestino, mejorando la salud del hospedero. Por ello, los prebióticos se consideran suplementos dietéticos que modifican la composición de la microbiota intestinal.

Un ingrediente alimenticio es considerado prebiótico si cumple (Gibson, 1999) con:

- a). No sea hidrolizado ni absorbido en la parte anterior del tracto gastrointestinal.
- b). Utilizarse selectivamente por bacterias potencialmente beneficiosas del colon.

- c). Modificar la microbiota del colon a especies benéficas para el hospedero.
- d). Inducir efectos benéficos a la salud de las personas.

### **2.3 Aditivos en la industria de alimentos**

Los aditivos alimentarios son sustancias naturales o sintéticas que se agregan a los productos alimenticios en pequeñas cantidades para resaltar cualidades como el color, el dulzor, la textura, o extender el periodo de consumo. En la Unión Europea se identifica a los aditivos alimentarios con la letra E. De acuerdo a las funciones tecnológicas se definen 25 categorías de aditivos alimentarios. Los conservadores son utilizados para extender la vida útil de los alimentos protegiéndolos del deterioro microbiano (Silva y Lidon, 2016).

El uso de aditivos alimentarios está regulado por leyes específicas como el Codex Alimentarius, Unión Europea, FDA en Estados Unidos de Norteamérica y en México por la Secretaria de Salud bajo las Normas Oficiales Mexicanas (NOM).

La Comisión Europea (2017) indica que los aditivos se añaden a los alimentos con fines tecnológicos en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento, y se convierten en un componente del alimento. Algunas funciones de los aditivos son:

- Color, si se usan para añadir o restaurar el color en un alimento.
- Conservadores, para prolongar la vida útil, protege contra microorganismos.
- Antioxidantes, protege contra la oxidación (enranciamiento de grasas y cambio de color), y prolongan la vida útil.

- Agentes de tratamiento de harinas, se añaden para mejorar la calidad de cocción.

La Legislación Mexicana a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) define los aditivos alimentarios como sustancias permitidas y coadyuvantes en los productos, se agrupan en once categorías y especifican los productos para su uso.

De acuerdo a normativas europeas, Suarez-Diéguez (2014), indica la siguiente clasificación general:

1. Aditivos con diversas clases funcionales y con una IDA (Ingestión Diaria Admisible) establecida.
2. Aditivos con diversas clases funcionales que pueden ser utilizados de acuerdo a las BPF (Buenas Prácticas de Fabricación).
3. Colorantes con una IDA establecida.
4. Colorantes que pueden ser utilizados de acuerdo a las BPF.
5. Sustancias purificadas para masticar.
6. Enzimas.
7. Edulcorantes con una IDA establecida.
8. Edulcorantes que pueden ser utilizados de acuerdo a las BPF.
9. Aditivos permitidos en fórmulas para lactantes, fórmulas de continuación y fórmulas para necesidades especiales de nutrición.
10. Coadyuvantes de elaboración.
11. Saborizantes.

El uso de varios aditivos simultáneamente es frecuente, debido a las características diversas del producto alimenticio, su autodegradación y necesidad de estabilizarse por otro, o mejorar una función particular (efecto sinérgico) (Silva y Lidon, 2016).

La función de los aditivos alimenticios es diversa, se agrupan en categorías. Los colorantes restauran el color de los alimentos para que sean atractivos a la vista; los potenciadores fortalecen el sabor; los edulcorantes como el aspartame se utilizan para endulzar con menor contenido calórico; y los conservadores alargan la vida útil en condiciones óptimas; los estabilizantes permiten mezclas de ingredientes que en condiciones naturales son imposibles, como el agua y el aceite, un ejemplo son los usados en los helados para darles consistencia gelatinosa y mayor viscosidad (Bruce y Steven, 2009).

### **2.3.1 Los estabilizantes en la industria láctea**

La demanda de nuevos productos alimenticios con mejor textura, sabor y otras propiedades organolépticas presiona a la industria agroalimentaria a mejorar sus productos. Existe una demanda creciente de productos alimenticios saludables y naturales lo que impulsa el desarrollo del mercado de los hidrocoloides o estabilizantes. El Informe Global de Mercado hidrocoloides al 2013-2018, prevé que América del Norte será el mayor consumidor de hidrocoloides alimenticios.

Los estabilizantes son sustancias indispensables en los productos alimenticios, suavizan la textura permitiendo la dispersión homogénea de dos o más materiales inmiscibles, y adquieren un marco definido con atributos fisicoquímicos establecidos después de su adición (Baer *et al.*, 1997). La estabilización básica y la integración

de mejoras, se comportan como estructuras para controlar, retener e integrar la coloración y el flúor del producto alimenticio (Fizman y Salvador, 1999).

Una amplia gama de estabilizantes se utiliza en la industria alimentaria y su uso legal data de medio siglo (Dickinson, 1988, 1992, 2003), en diversos productos, de panadería, bebidas, confitería, margarina, manteca y productos lácteos (Maroziene y de Kruif, 2000). Estos se usan para mejorar el espesamiento, la sensación en la boca, la estabilidad de la estructura del producto (Harris, 1990); la capacidad de unión al agua, consistencia cremosa, viscosidad, disminuyen el uso de grasas y por tanto productos bajos en calorías (Keogh y O'Kennedy, 1998).

La selección del estabilizante será de acuerdo a la naturaleza del producto alimenticio, y depende de sus propiedades funcionales, uso y resultado previstos, las interacciones con otros ingredientes y aspectos legales (Phillips y Williams, 2000; Imeson, 1997; Harris, 1990).

Los hidrocoloides, polímeros de cadena larga, son estabilizantes muy usados dadas las propiedades que confieren a los alimentos, fácilmente dispersivos, total o parcialmente solubles, tendencia a hincharse en el agua, forman geles, espesan, emulsifican, revisten, estabilizan. Producen una dispersión y muestran propiedades de un coloide (Li y Nie, 2016). El siguiente cuadro presenta una clasificación de los estabilizantes.

**Cuadro 4.** Estabilizantes según origen y estructura (Li y Nie, 2016).

Origen	Estabilizante
--------	---------------

Planta	Pectina, inulina; gomas: árabe, ghatti, de tragacanto, karaya, de semilla de cassia, de semilla de albahaca, de semilla de mezquite, de alholva, chicle, de avena, de centeno, guar, de algarroba, de semilla de lino, acacia; konjac, <i>Psyllium</i> , almidón.
Animal	Quitina, quitosano, gelatina.
Algas marinas	Agar, carragenina, ácido algínico, alginato, furcellarano, ulvan, fucoidan, xilano alga roja.
Microbiano	Xantano, dextrano, pululano, curdlan, levan; goma: gellan, tara y welan.
Sintético	Metil celulosa, metil etil celulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa microcristalina.
<b>Estructura</b>	
Glucano	Almidón; goma: de avena, de cebada, welan; pululano, dextrano, curdlan.
Fructanos	Inulina, levano.
Xilano	Xilano alga roja.
Ramnano	Ulvan
Galactomanano	Goma: de guar, de algarroba, de tara, de semilla de cassia, de semilla de albahaca, de semilla de mezquite, de alholva.
Glucomanano	Konjac, alginato.
Arabinoxilano	<i>Psyllium</i> ; goma: de semilla de lino (que contiene otra fracción galacturonano), de centeno, de trigo.
Galactan	Agar, carragenano, fucoidan, furcellaran.
Arabinogalactano	Goma de mascar árabe.
Galacturonano	Pectina.
Glycano-ramnogalacturonano	Goma: karaya, de tragacanto (que contiene otra fracción arabinogalactano).
Glycano-glucuronomannoglycan	Goma ghatti
polímero de glucosamina	Quitina, quitosano.
Proteína	Gelatina.

Los hidrocoloides comerciales comunes son el almidón, pectina, inulina, gelatina, agar, gomas (xantano, guar, de algarroba, árabe, gellan), carragenina, alginatos,

metil celulosa (MC), carboximetilcelulosa (CMC), hidroxipropil metil celulosa (HPMC), e hidroxietil celulosa de metilo (HMC), entre otros. El mercado de hidrocoloides en el mundo es 260000 t, y está compuesto de 70 % almidones, 12 % gelatina, 5 % pectina, 5 % carragenanos y 4 % goma de xantano, seguido de LBG, alginatos, CMC, goma guar, y otros (Nussinovitch y Hirashima, 2014). Las características de los estabilizantes se muestran enseguida.

**Cuadro 5.** Caracterización y propiedades de estabilizantes alimenticios.

<b>Nombre</b>	<b>Tipo</b>	<b>Origen</b>	<b>Propiedades</b>
Gelatina	Proteína	Piel y huesos de vacas y cerdo	Gelante
Proteína de leche	Proteína	Leche de vaca	Emulsificante, Espesante
Carragenina	Polisacárido	Algas rojas	Gelante, estabilizante
Agar	Polisacárido	Algas rojas	Gelante, estabilizante
Alginato	Polímero de ácidos orgánicos	Algas cafés	Gelante, estabilizante
Goma de algarrobo	Polisacárido	Árbol de algarrobo	Espesante
Goma Guar	Polisacárido	Planta de la Goma Guar	Espesante
Pectina	Polímero de ácidos orgánicos	Frutos cítricos y manzanas	Gelante, estabilizante
Goma xantana	Polisacárido	Metabolito	Espesante, estabilizante
Goma Gellana	Polisacárido	Metabolito	Gelante, estabilizante
Almidón	Polisacárido	Maíz, Tapioca, otras plantas	Espesante, estabilizante
MCC	Celulosa	Fibras vegetales	Espesante, estabilizante
CMC	Celulosa	Fibras vegetales	Espesante, estabilizante

### **2.3.2 Los almidones modificados como estabilizantes**

Los almidones modificados son derivados de almidón nativo, se utilizan como componente alimentario y se basa en sus propiedades de interacción con el agua, especialmente para la formación de geles. Son utilizados en la fabricación de helados, conservas, salsas, en otros países se limita su uso en yogures y conservas vegetales (Duran-Ramírez, 2006).

Los almidones modificados se derivan principalmente de almidón de maíz y papa (Comisión Europea, 2000), después de un tratamiento físico o químico para usarse en la formación de geles viscosos resistentes al calor y en medios ácidos, como yogures, helados, conservas vegetales y salsas espesas. Algunos almidones no se digieren y otros se metabolizan en fracciones como el almidón natural, aportando las mismas calorías (Ibañez, 2003).

### **2.3.3 Procesos de modificación del almidón nativo**

El almidón nativo es abundante en los alimentos amiláceos (cereales, patatas), su extracción es sencilla y económica considerando sus propiedades, y comparado con otros aditivos; el almidón más utilizado es el de maíz. Este almidón presenta limitantes en alimentos ácidos, o al calentarse o congelarse, que pueden mejorarse al modificarlo física y químicamente (Winterton y Meiklejohn, 1978).

Una de las modificaciones más utilizadas es el entrecruzado, que consiste en la formación de puentes entre las cadenas de azúcar que forman el almidón. Si los puentes se forman utilizando trimetafosfato, se tiene el fosfato de dialmidón; si se forman con epiclorhidrina, el éter glicérido de dialmidón; y si se forman con anhídrido



adípico, el adipato de dialmidón. Estas reacciones se desarrollan de manera sencilla con el producto adecuado en presencia de un álcali diluido y modifican poco la estructura, ya que se forman puentes entre 1 de cada 200 restos de azúcar como máximo (Duran-Ramírez, 2006).

El almidón es, después de la celulosa, el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza. Los almidones se modifican para mejorar los atributos de los almidones nativos, aunque se pueden encontrar de forma natural en poca proporción dentro de éstos. Otra modificación posible es la formación de ésteres o éteres de almidón (substitución); si se hace reaccionar el almidón con anhídrido acético se obtiene el acetato de almidón hidroxipropilado, y si es con tripolifosfato, el fosfato de monoalmidón (Corsi *et al.*, 2007).

Los almidones físicamente modificados son simples y de bajo costo, ya que pueden ser producidos por medios físicos, químicos y biológicos. La modificación química es posible por los grupos hidroxilo ubicuos en almidones, que han sido usados por más de un siglo, principalmente en la preparación de ésteres de almidón y éteres, y también en alteraciones más sutiles para aplicaciones específicas. Estas técnicas alteran el polímero de almidón altamente flexible, con propiedades físicas y químicas, y atributos estructurales de alto valor tecnológico para la industria alimenticia y no alimenticia (Ashogbon y Akintayo, 2014).

#### **2.4 Modificación física del almidón**

La mayoría de los almidones nativos son inestables a diversas temperaturas, cizallas y condiciones de pH. También la mayoría de los gránulos son inertes, insolubles a temperatura ambiente, altamente resistentes a la hidrólisis enzimática

y, por tanto, carecen de propiedades funcionales específicas (Fechner, 2005). Por ello se modifican a menudo para desarrollar propiedades específicas como la solubilidad, la textura, la adhesión y la tolerancia al calor, para aplicaciones industriales. Existen diversidad de métodos de modificación de biopolímeros de almidón (Anderson, 2002). Métodos recientes de modificaciones físicas de almidones de fuentes botánicas se analizan y usan para conocer su aplicabilidad; algunos de ellos se muestran en el siguiente cuadro, así como la referencia.

**Cuadro 6.** Tipos de modificaciones físicas del almidón nativo.

<b>Modificación física</b>	<b>Referencia</b>
Sobrecalentado del almidón	(Steeneken y Woortman, 2009)
Sinéresis iterada	(Lewandowicz y Soral-Smietana, 2004)
Tratamiento térmico inhibidor	(Lewandowicz y Soral-Smietana, 2004; Lim <i>et al.</i> , 2002)
Tratamiento por presión osmótica	(Pukkahuta <i>et al.</i> , 2007)
Congelación y descongelación múltiple	(Szymonska <i>et al.</i> , 2003)
Disminución instantánea de presión controlada (DIC)	(Zarguili <i>et al.</i> , 2006)
Proceso hidrotérmico DIC	(Maache-Rezzoug <i>et al.</i> , 2009)
Agitación mecánica con molino de bolas	(Huang <i>et al.</i> , 2007)
Micronización y modificación hidrófoba	(Che <i>et al.</i> , 2007)
Tratamiento con campos eléctricos pulsados	(Han <i>et al.</i> , 2009)
Descargas eléctricas de la corona	(Nemtanu, 2006)

La modificación física es simple, barata y segura, dado que no requiere de productos químicos o agentes biológicos; la técnica usada depende de la integridad molecular a mantener; por ejemplo, la pregelatinización permite una modificación parcial del gránulo, así como la despolimerización, y los procesos hidrotermales, donde la integridad molecular de los almidones se conserva (Ashogbon y Akintayo, 2014).

#### **2.4.1 Modificación química**

La modificación química implica la introducción de grupos funcionales en las moléculas de almidón, lo que resulta en propiedades físicas y químicas marcadamente transformadas. Dicha modificación de almidones granulares nativos cambia las propiedades de gelatinización, retrogradación y características de pegado. El objetivo de la modificación es facilitar vínculos intra e intermoleculares en diversos lugares al azar del gránulo de almidón para su estabilización. Las propiedades químicas y funcionales alcanzadas por almidones modificados dependen de la fuente de almidón, las condiciones de reacción (concentración del reactivo, tiempo de reacción, pH, catalizador), el tipo de sustituyente, grado de sustitución (DS) y distribución de los sustituyentes en la molécula de almidón (Wang y Wang, 2002) .

La modificación se consigue por derivatización, como acetilación, cationización, oxidación, hidrólisis ácida y reticulación. Estas técnicas son limitadas debido a la seguridad de los consumidores y del medio ambiente. La tendencia es el uso de técnicas de doble modificación, que consiste en la combinación de agentes físicos y químicos, por ejemplo, acetilación y microondas o fosforilación y altas presiones hidrostáticas (HHP) (Hirsch, 2002).

## 2.5 Aspectos generales del *Amaranthus* spp. y *A. hypochondriacus*

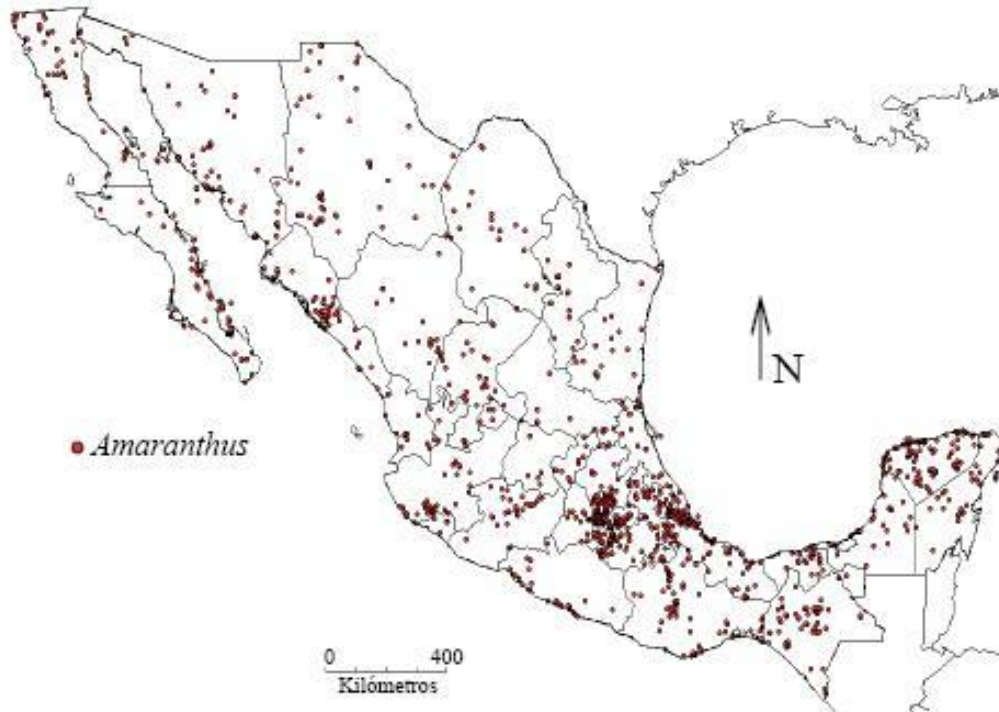
### 2.5.1 Distribución geográfica

El amaranto es una planta herbácea anual que pertenece al género *Amaranthus*, incluye cerca de 70 especies nativas de las cuales 40 pertenecen al continente americano, como *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* y *A. caudatus*, las de mayor importancia en producción de grano y ampliamente distribuidas en México (Feine, 1979).

Se difiere de los orígenes del amaranto, Grubben y Sloten (1981) citado por Espitia-Rangel (2010), sugieren que las especies productoras de granos son originarias de América, y las que se ocupan para verdura son de Asia y África, aunque evidencias arqueológicas encontradas en México confirman que el origen de las especies cultivadas para grano es América, probablemente Guatemala y el sureste de México.

De la especie *A. cruentus* sitúan su origen en América central y suroeste mexicano, de *A. caudatus*, indican que proviene de la cordillera de los Andes y *A. hypochondriacus*, especie para producción de grano, es originaria de México (Sauer, 1950).

La siguiente figura muestra la distribución del género *Amaranthus* en México, como se aprecia, existen especies en todos los Estados del país, lo que refleja la importancia del amaranto en la cultura mexicana.



**Figura 4.** Distribución del género *Amaranthus* en México (Espitia-Rangel, 2010).

## **2.6 *Amaranthus hypochondriacus***

La especie *A. hypochondriacus* tuvo varios cambios de nombre, éste es el que Linneo le otorgó en 1753 (Singh, 1961). La planta alcanza alturas de tres metros, tiene hojas elípticas u ovado-oblongas; posee inflorescencias densas de gran tamaño, erectas y espinosas; flores pentámeras, tépalos ligeramente curvados y más largos que los de otras especies para producción de grano; semillas de color blanco, dorado, café y negro. Esta especie también es utilizada como ornamental por sus inflorescencias vistosas (Grubben, 1975).

*A. hypochondriacus*, cuenta con cinco razas (Mapes-Sánchez y Espitia-Rangel, 2010), Azteca, Mercado, Mixteco, Nepal y Picos.

## **2.7 Composición química de la semilla de *Amaranthus* spp.**

Las semillas negras de *A. caudatus* contiene mayor proteína cruda que las semillas de colores claros; también más fibra y menos almidón. El amaranto contiene más proteína cruda, grasa, fibra y cenizas que los cereales y menor cantidad de carbohidratos.

### **2.7.1 Proteínas**

La proteína del amaranto tiene una calidad nutritiva de las más altas de origen vegetal, comparable a la de productos de origen animal (Bressani *et al.*, 1993). La fracción proteica principal del amaranto contiene albúminas, globulinas y nitrógeno no proteico (56.9 a 69.2 %), gluteínas (21.3 a 29.4 %) y prolaminas (1.2 a 3.1 %). Las fracciones de proteínas del amaranto es comparable a la de trigo y garbanzo que a la de maíz (Bressani y Garciavela, 1990).

El perfil de aminoácidos de una proteína es un indicador de su valor nutritivo. La digestibilidad de las semillas de amaranto es de 77.6 a 88.5 %, inferior al maíz y trigo; una vez tostadas alcanzan 90 % de digestibilidad (Bressani y Garciavela, 1990). *A. hypochondriacus* sin tratamiento tiene un valor biológico de 73 % y *A. caudatus* reventado (tostado) muestra valores de 86 %. La disponibilidad de aminoácidos esenciales de la proteína es elevada.

### **2.7.2 Aminoácidos**

El amaranto tiene adecuados niveles de aminoácidos azufrados y de lisina. Las semillas amarillas de *A. hypochondriacus* y las de color negro de *A. caudatus* tienen contenidos similares en algunos aminoácidos; este último contiene casi el doble de

que el maíz y trigo, y un poco menos que el frijol. Las proteínas de amaranto cumplen satisfactoriamente con el requerimiento de aminoácidos esenciales para adultos, reportado por la FAO-WHO-UNU (1985).

### **2.7.3 Carbohidratos**

El almidón es el principal componente en la semilla de amaranto, de 52.4 a 70 %, y pequeñas cantidades de sacarosa y rafinosa (Becker *et al.*, 1981). El almidón es un polímero altamente funcional que puede ser modificado física, química o enzimáticamente, para obtener propiedades adecuadas para necesidades específicas. De acuerdo al contenido de amilasa/amilopectina el almidón se clasifica en dos tipos: a) tipo glutinoso, opaco o ceroso, formado principalmente por amilopectina, con menos de 1 % de amilasa, los gránulos se tiñen de ámbar a púrpura en presencia de yodo; y b) tipo no ceroso, traslúcido o normal, el contenido de amilasa es mayor a 5%, los gránulos dan una coloración azul cuando se tiñen con yodo (Okuno y Sakaguchi, 1981). La mayoría de los gránulos de almidón de amaranto cuando se observan al microscopio electrónico aparecen claramente poligonales. En *A. hypochondriacus* y *A. caudatus* los gránulos miden de 1 a 3 µm de diámetro (Paredes-Lopez *et al.*, 1988). Los gránulos más pequeños de maíz, trigo y arroz son mayores que los de amaranto. El poder de hinchamiento del almidón de amaranto es similar al del almidón ceroso de maíz.

### **2.7.4 Azúcares**

Los principales azúcares encontrados en el amaranto son la sacarosa (0.41 a 0.87%), glucosa (0.00 a 0.67 %), rafinosa (0.13 a 0.32 %) y fructosa (0.00 a 0.45 %). Saunders y Becker (1984) reportaron que la sacarosa es el azúcar libre

encontrado en todas las especies de amaranto, en concentraciones muy inferiores a las observadas en otros granos. Algunas muestras no presentan monosacáridos debido a que las semillas se cortan en diferente etapa de madurez (Becker *et al.*, 1981).

### **2.7.5 Lípidos**

Los contenidos de grasa en las especies de amaranto van de 6.1 a 10.9 %. La mayor parte de los lípidos en amaranto se localizan en la fracción testa-embrión (25 % del peso de la semilla), la cual puede ser removida por tamizado después de la molienda (Saunders *et al.*, 1987). El amaranto contiene más grasa que los cereales como el maíz, pero menos que la soya. Del 72 al 84 % de los ácidos grasos del amaranto son insaturados, en maíz y soya es de 86 y 85 %; de éstos, el ácido linoleico se encuentra en mayor proporción (49.4 a 58.2 %), seguido del oleico (19.4 a 26.7 %) y el linoleico (0.3 a 1.3 %) (Sudhakar *et al.*, 1992). El ácido linoleico es el principal ácido graso en el amaranto, es esencial, suministrado por los vegetales, precursor de las prostaglandinas cuya función es análoga a las hormonas.

### **2.7.6 Minerales y vitaminas**

El amaranto tiene mayores contenidos de sodio que otros cereales, y similar en potasio; altos niveles de calcio ( $6.5 \text{ mg}100 \text{ g}^{-1}$ ) sugieren que el ácido fítico puede estar como sal de calcio insoluble en la semilla (Paredes-Lopez *et al.*, 1988).

La riboflavina y ácido ascórbico se encuentran en mayor cantidad que en el trigo, la niacina y tiamina en menor concentración, ubicadas principalmente en la testa; el caroteno está ausente en el grano (Sudhakar *et al.*, 1992).



### 3. JUSTIFICACIÓN

La industria de las bebidas lácteas tiene gran demanda y es una de las más innovadoras, ofrece nuevos productos con sabores exóticos y características funcionales, la incorporación de probióticos y prebióticos que mejoran la digestibilidad, como el nopal.

En México la producción comercial de amaranto es limitada, y se concentra en Morelos, Estado de México, Puebla y Tlaxcala, este último el mayor productor. En 2014 se reportaron 5,032.25 ha con una producción de 6,547.07 toneladas (SAGARPA-SIAP, 2014).

Tras la erradicación del amaranto se limitó la diversidad de usos que se tenían, y su inserción en la actualidad se ha destinado a la elaboración de botanas, malteadas y dulces; sin embargo, diversos estudios han reportado el potencial como fuente de almidón para la industria alimenticia (Gonzalez *et al.*, 2007a).

La industria alimenticia demanda aditivos funcionales, en particular la de bebidas lácteas. Evaluar las propiedades estabilizantes del amaranto, revalorizará y diversificará su uso, y fortalecerá las características nutricionales de las bebidas lácteas, lo que permitirá dar valor agregado y diversificar la producción de amaranto y de la industria de bebidas fermentadas. Existe interés en la industria alimenticia de incluir el amaranto en los productos, para aprovechar sus propiedades.

#### **4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Las bebidas lácteas fermentadas de calidad requieren la adición de estabilizantes. Actualmente la industria de alimentos demanda ingredientes funcionales, por lo que han surgido una diversidad de estabilizantes provenientes de plantas o semillas. Se ha reportado que el amaranto tiene propiedades para utilizarse como agente viscoso y estabilizante; sin embargo, existen pocos trabajos de investigación que evalúen estas características en productos lácteos, por lo que es necesario conocer el comportamiento de las propiedades nutritivas y reológicas del amaranto como agente estabilizante, y determinar las ventajas nutritivas y texturales en una bebida láctea fermentada probiótica.

## **5. HIPÓTESIS**

El uso de grano de amaranto modificado en una bebida láctea fermentada, otorgará características comparables a las obtenidas utilizando estabilizantes comerciales, y mejorará las propiedades nutricionales.

## **6. OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar las propiedades físicas y químicas del almidón modificado de amaranto en una bebida láctea con probióticos.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar las propiedades físicas y químicas del grano de amaranto antes y después de la modificación ácida y diferentes temperaturas de gelatinización.
2. Caracterizar las propiedades funcionales del grano de amaranto modificado.
3. Determinar la reología de una bebida láctea probiótica con amaranto modificado.
4. Determinar la viabilidad de los microorganismos probióticos en la bebida láctea.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1 Ubicación del trabajo de investigación**

Este trabajo de investigación se desarrolló en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba y Campus Montecillo. Algunas determinaciones se realizaron en el CINVESTAV unidad Zacatenco y en el Instituto Tecnológico Superior de Perote.

#### **Leche**

Para la bebida láctea se utilizó leche entera ultrapasteurizada marca LaLa®. Por norma debe contener al menos 30 gramos por litro de grasa butírica.

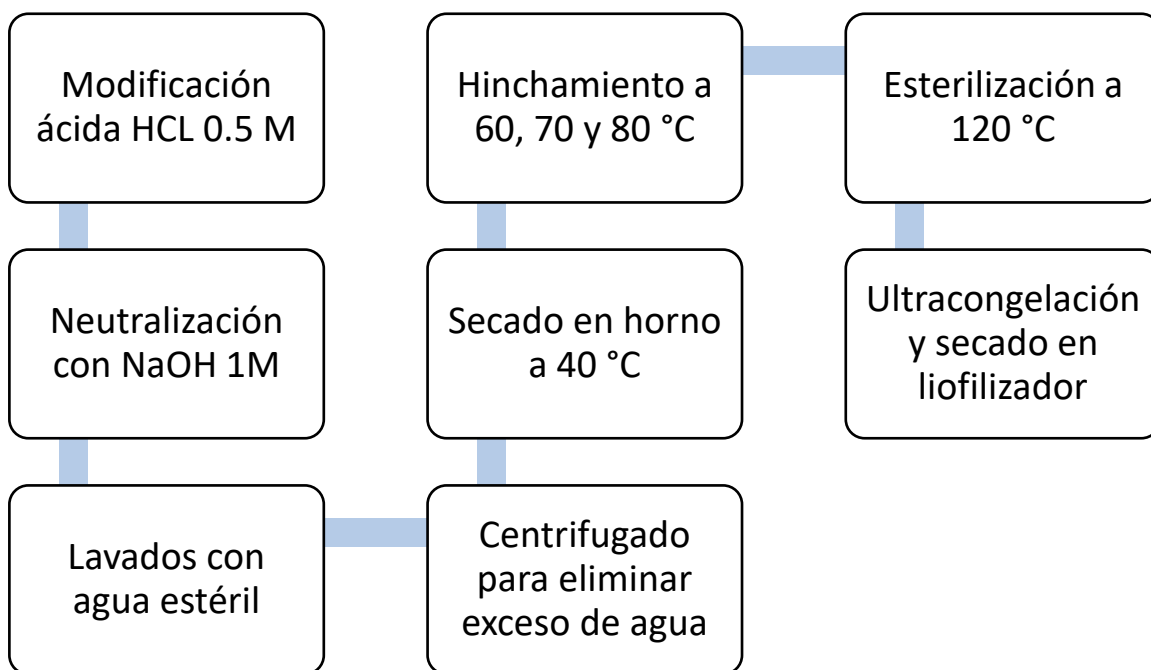
#### **Amaranto**

Se utilizó grano de *Amaranthus hypochondriacus* L. del municipio de Tochimilco, Puebla, otorgado por la empresa Delissa S.A., de calidad, limpio (más de 90 %) y listo para producción.

### **7.2 Modificación del grano**

La modificación del grano se realizó con la técnica de Koksel *et al.* (2008), que consta de tres partes: modificación ácida, hinchamiento y esterilización. En la fase de hinchamiento se modificaron las temperaturas.

La figura 5 muestra el proceso de modificación química del amaranto.



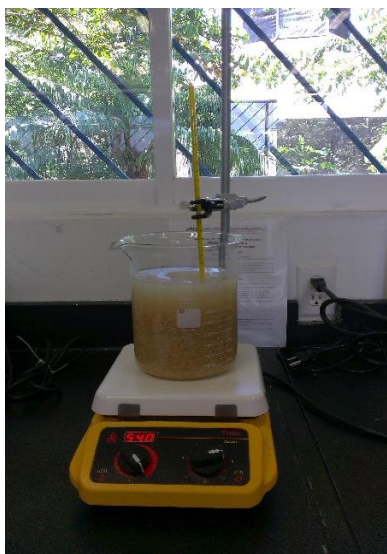
**Figura 5.** Diagrama de flujo de modificación química del amaranto.

### 7.2.1 Modificación ácida

Se suspendieron 500 g de amaranto en 1000 mL de HCL al 0.5 M durante 2 horas, a una temperatura de 35 °C en baño María marca Riossa® RB-40. Con NaOH al 1 M se ajustó el pH a 6.5 utilizando un pHmetro ECOTest® pH2 para neutralizar el ácido. Enseguida el grano se lava cinco veces con agua destilada y se transfirió a tubos Falcon® de 50 mL para centrifugar a 1000 rpm por cinco minutos en una centrifuga eppendorf® 5810 R, se retiró el sobrenadante y las muestras se deshidrataron en el horno de secado Terlab® a 40 °C por 12 horas (Kong *et al.*, 2012).

### 7.2.2 Gelatinización

100 g de muestra se suspendieron en 1000 mL de agua destilada a 60 °C durante 15 min, con el uso de una parrilla de calentamiento Thermo Scientific®. El mismo procedimiento se sigue a 70 y 80 °C (Singh *et al.*, 2014), como se muestra en la figura 6.



**Figura 6.** Amaranto en agua a diferentes temperaturas.

### 7.2.3 Hinchamiento

Las muestras gelatinizadas se llevan a la autoclave a 121 °C durante 30 min y se dejan reposar 48 horas antes de que se ultra congelen a -48 °C y se liofilicen (liofilizadora Labconco® Frezone 4.5). Enseguida se molió en licuadora Máximo® y tamizó en tamizador Octágono® y tamiz Endecotts® de 300 micras. La harina fue almacenada en bolsas de polipropileno selladas, en lugar seco a temperatura ambiente para evitar absorbieran humedad.

### **7.3 Análisis del amaranto modificado y nativo**

#### **7.3.1 Determinación de humedad**

Después de liofilización, se determina la humedad de la harina por diferencia de peso en un horno Terlab®, una muestra de 3 g a 105 °C por 12 h hasta peso constante (NOM-116-SSA1-1994). El porcentaje de humedad se determina con la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = 100(((B-A) - (C-A))/(B-A))$$

Donde:

A = Peso del crisol seco (g).

B = Peso del crisol seco + muestra húmeda (g).

C = Peso del crisol seco + muestra seca (g).

#### **7.3.2 Determinación de grasa**

El contenido de materia grasa de la harina se determinó por el método Soxhlet, de acuerdo a la AOAC (2000) usando 100 mL de éter de petróleo. 3g de la muestra seca son colocados en un cartucho para la unidad de extracción, previo los matraces son puestos a peso constante. Se calienta a 60 °C hasta ebullición por 4 horas, posteriormente se recupera el solvente y los matraces se llevan al horno a 60 °C por 1 hora, se dejan enfriar en un desecador y se pesan. El análisis se realizó por triplicado. El contenido de extracto etéreo se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de materia grasa} = Pf - Pi$$

Donde:

Pi= Peso inicial del matraz sin materia grasa (g)

Pf= Peso final del matraz con materia grasa (g)

### **7.3.3 Determinación de fibra cruda**

A 2 gramos de muestra desengrasada y seca, se determinó fibra cruda por digestión secuencial de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio de acuerdo al método descrito por la AOAC (1997).

### **7.3.4 Determinación de proteína**

La proteína se determinó con el uso del equipo TRUSPEC LECO N (*Galvez-Sola et al.*, 2009). El factor de conversión de nitrógeno a proteína fue 6.25.

### **7.3.5 Determinación de cenizas**

Se determinó por el método de calcinación de acuerdo a la NMX-F-607-NORMEX-2013, a 550 °C por 5 horas en mufla (Scorpion Scientific, A-52230). Los crisoles secos de porcelana se pesan y se agregan 3 g de muestra deshidratada, y se llevan a la mufla a una temperatura de 550 °C por 5 horas. El análisis se realizó por triplicado. El cálculo del contenido de cenizas se obtuvo de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{[(C - A) - (D)]}{B} * 100$$



Donde:

C= Peso del crisol con cenizas (g)

A= Peso del crisol vacío (g)

B= Peso de la muestra (g)

D= Peso del blanco de reactivos

### **7.3.6 Determinación de almidón total**

Se determinó considerando el Método AOAC (Oficial Method 996.11). 100 mg de amaranto previamente tamizado se colocan en tubos de 15 mL, se adicionan 0.2 mL de etanol al 80 % v/v y se homogeniza en vortex. Enseguida se agregan 3 mL de  $\alpha$ -amilasa termoestable, y se incuba a 100 °C por 12 minutos, con agitación vigorosa cada 2 minutos. Los tubos se pasan a baño María a 50 °C y se adiciona 0.1 mL de amiloglucosidasa, se homogeniza e incuba por 30 min.

La mezcla se transfiere a un matraz volumétrico de 100 mL y se afora con agua destilada, se homogeniza y toma una alícuota de 10 mL en tubos de 15 mL, se centrifuga a 3000 rpm por 10 minutos, y se recupera el sobrenadante para realizar el ensayo.

Se transfiere por duplicado alícuotas de 0.1 mL del sobrenadante a tubos de ensayo de vidrio, se adicionan 3.0 mL de solución GOPOD Reagent (ácido p-hidroxibenzoico, ácido de sodio, Glucosa oxidasa-peroxidasa), y se realiza lectura a 510 nm en el espectrómetro UV (Genesys 10S UV-visible Thermo Scientific).

Ecuación 1. Porcentaje de almidón total.

$$\% \text{ almidón} = \Delta A \times F \times \frac{FV}{.01} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180}$$

### 7.3.7 Poder de hinchamiento y porcentaje de solubilidad

La determinación del poder de hinchamiento se llevó a cabo en intervalos graduales de temperatura de 55-95 °C. 1 g de almidón se transfirió a un tubo de ensayo seco y pesado ( $w_1$ ). Se añadieron 10 mL de agua destilada y se mezcla 30 s. Las suspensiones resultantes se calentaron de 55 °C a 95 °C durante 30 minutos en baño María. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó a 2500 rpm por 15 min. El sobrenadante se extrae y se guarda, el tubo con residuo de amaranto y agua se pesa ( $W_2$ ) (Lawal y Adebawale, 2005).

Ecuación 2. Poder de hinchamiento.

$$\text{Hinchazon del almidón} = \frac{W_2 - W_1}{\text{peso del almidón}}$$

La solubilidad del almidón se determina:

Alícuotas de 5 mL del sobrenadante se secan a 110 °C hasta peso constante. El residuo obtenido después de secar el sobrenadante representa la cantidad de almidón solubilizado en agua. La solubilidad se calcula en gramos por 100 g de almidón en base seca.

### **7.3.8 Propiedades de gelatinización**

Propiedades térmicas se analizan con un calorímetro adiabático. Las muestras de amaranto previamente pulverizado se humectaron con agua destilada hasta obtener una humedad final de 70 %. Las muestras se colocan en la celda y sella herméticamente. La celda se calentó a una velocidad media de  $96 \text{ mK} \cdot \text{min}^{-1}$ , de 40 a  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  (Cruz-Orea *et al.*, 2002).

La entalpía se puede obtener directamente a partir de la ecuación:

$$H(T) - H(T_0) = P(T - t_0)$$

Donde  $H(T_0)$  es la entalpía a la temperatura de partida  $T_0$  en el momento inicial  $t_0$ , y  $H(T)$  la entalpía a la temperatura  $T$  en un momento posterior  $t$  en el periodo previo.

### **7.3.9 Observación en microscopía de barrido**

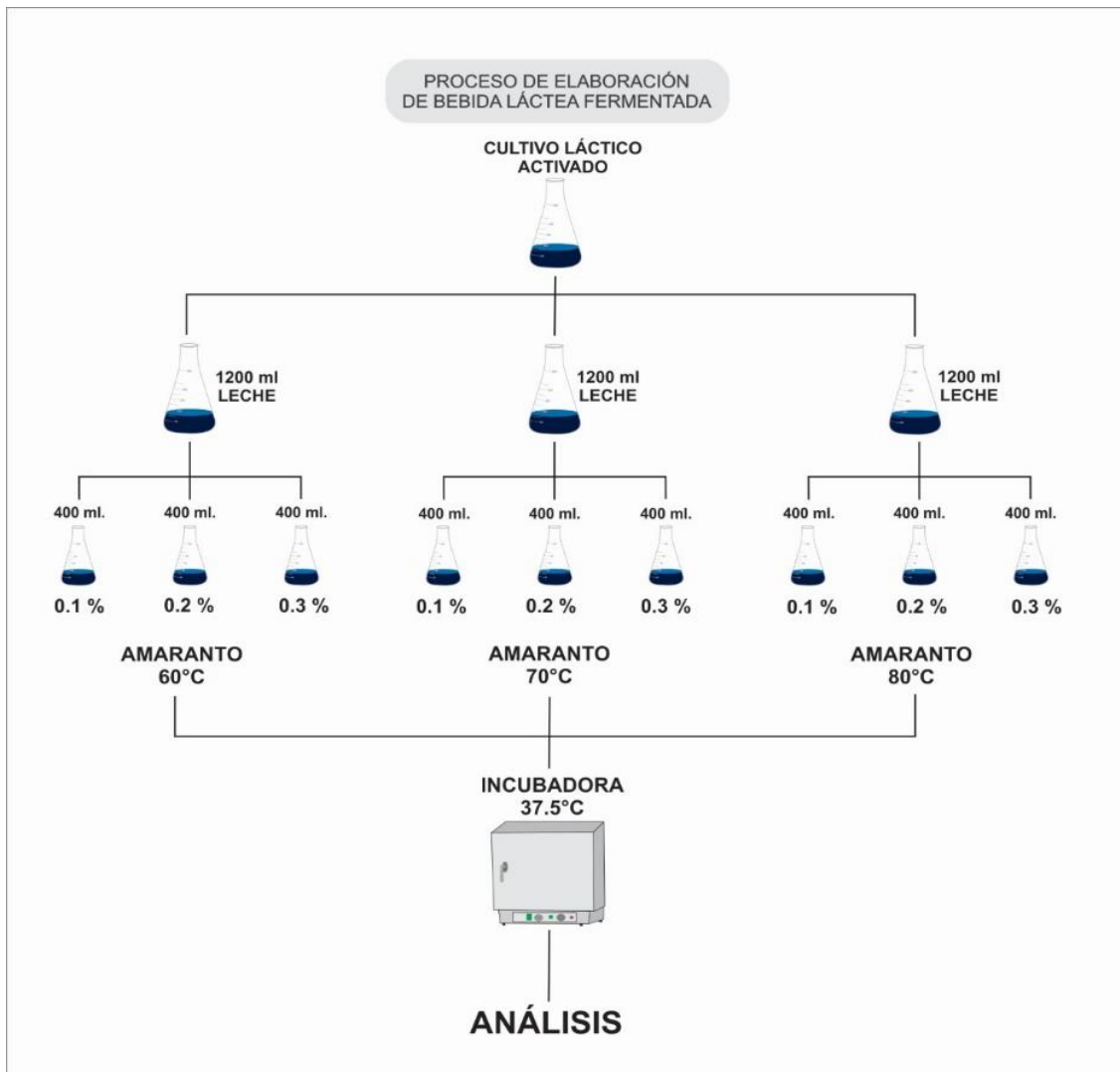
La muestra seca y molida de los tratamientos de amaranto son colocadas en un portaobjetos, se recubre con una capa conductora de 1-100 nm de espesor de oro. Enseguida son colocadas en el microscopio electrónico de barrido marca JEOL para ser observadas. De acuerdo a la literatura el tamaño de las partículas del almidón de amaranto están entre 1 a 10 nm. Se realizaron observaciones hasta 100 nm para contar con un panorama general.



**Figura 7.** Microscopio electrónico de barrido marca JEOL del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Imagen propia.

#### **7.4 Proceso de elaboración de la bebida láctea fermentada probiótica con grano de amaranto como estabilizante**

El proceso sintético de la elaboración de la bebida láctea fermentada probiótica, con uso de almidón de amaranto como estabilizante se muestra en la siguiente figura.



**Figura 8.** Diagrama de flujo del proceso de elaboración de bebidas lácteas con amaranto como estabilizante.

La leche ultrapasteurizada se dividió en cantidades de 400 mL en trece matraces. A tres matraces se les agregó carboximetilcelulosa (estabilizante comercial) en concentraciones de 0.1, 0.2, y 0.3 %, a otros se añadió amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C, un matraz como testigo (sin estabilizante), enseguida se llevaron a 40 °C y se adicionaron 0.007 g de medio de cultivo láctico comercial Lyofast Y 470 E (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus*) y 0.003

g de Lyofast Y AB 472 EC (*Bifidobacter lactis*) como probiótico, se homogeniza y se colocó en una estufa a 37.5 °C durante 12 horas.



**Figura 9.** Atemperado de la leche para posterior inoculación.

## **7.5 Caracterización de la bebida láctea**

### **7.5.1 Determinación de acidez titulable y pH**

La determinación de acidez titulable se realizó de acuerdo al procedimiento AOAC (2006), 9 g de muestra se colocaron en un matraz, se diluye con 20 mL de agua libre de CO<sub>2</sub>. Se adicionó 0.5 mL de fenolftaleína como indicador y se tituló con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N. Los resultados se expresan en porcentaje de ácido láctico con el uso de la siguiente ecuación.

$$\% \text{ acidez titulable expresada como ácido láctico} = \frac{(V)(N)(Meq)(100)}{M}$$

Donde

V mL de hidróxido de sodio 0.1 N gastados en la titulación.

N Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

Meq miliequivalente químico del ácido láctico (0.090)

M peso de la muestra (g)

El pH se determinó mediante el método AOAC (2000). Se midió con un potenciómetro digital portátil (Eco Testr pH2 OAKTON, E.U.A.).

### 7.5.2 Determinación de viscosidad

Para medir la viscosidad se utilizó el viscosímetro digital Brookfield DV-III (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA). Se colocaron las muestras en vasos de 50 mL y se utilizaron las agujas LV-5 y LV-6 para todas las muestras. Se usaron las velocidades de giro de 100, 50 y 20 rpm.

Las lecturas obtenidas por aguja a una velocidad específica se multiplican por un valor el cual determina la viscosidad obtenida.

**Cuadro 7.** Agujas y factores de conversión por cada velocidad de cizalla.

Aguja	Velocidad 100	Velocidad 50	Velocidad 20
LV-5	40	80	200
LV-6	100	200	500

### **7.5.3 Grado de sinéresis**

Una muestra de 10 g se coloca en tubos para centrífuga (Ependorf), se centrifuga a 4000 rpm a 20 °C por 25 min. Enseguida se obtiene el peso del sobrenadante y se calculó el porcentaje de sinéresis (p/p) mediante la relación entre el peso del sobrenadante y el peso de la muestra (Costa *et al.*, 2013).

### **7.5.4 Determinación de microorganismos lácticos viables**

La determinación de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* viables, se realizó de acuerdo a la NMX-703-COFOCALEC-2004. Se realizó la enumeración de microorganismos característicos en yogur por medio de recuento de colonias en placa a 37 °C.

Se prepararon diluciones primarias con 10 g de muestra en 90 mL de agua peptonada previamente esterilizada, se mezcló 1 minuto, y se realizaron diluciones decimales hasta  $10^{-4}$  de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994: preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Se prepararon medios de cultivo MRS SIGMA ALDRICH y M17 Bioxon, de acuerdo a indicaciones. Se realizan por duplicado.

Una vez que solidificaron se incubaron, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a 37 °C por 72 h y *S. thermophilus* a 37 °C durante 48 h.

Se contaron las colonias características de cada microorganismo en las placas que contenían de 15 a 300 colonias.



## **7.6 Diseño experimental del análisis sensorial**

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el SAS® (versión 9.2, SAS institute, Cary, NC). Se usó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para determinar diferencias significativas entre medias con  $\alpha=0.05$ .

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Composición química proximal

Los análisis proximales del amaranto nativo (AN) y el tratado (AT) se presentan en el cuadro 8. En el caso del AT, el porcentaje de humedad es bajo respecto al AN, resultado del secado y la liofilización. Se obtienen contenidos altos de fibra, proteína y carbohidratos (obtenido por diferencia) para el AT, y en grasa y cenizas se obtuvieron valores bajos, posiblemente se debió al tratamiento con HCL donde la grasa pudo separarse de la muestra y perdido en los lavados posteriores, al igual que las cenizas, resultados similares fueron reportados por Lawal y Adebowale (2005), en su estudio proximal de frijol Jack sometido a un proceso similar.

**Cuadro 8.** Análisis proximal en base húmeda del amaranto nativo y amaranto tratado térmicamente (AT).

Amaranto	Humedad %	Cenizas %	Grasa %	Proteína %	Fibra %	Carbohidratos %
Nativo	11.98 ±0.21	2.56 ±0.11	7.18±0.12	16.85 ±0.46	3.38 ±0.27	58.04
AT-60	6.87 ±0.19	2.26 ±0.04	7.03±0.04	20.39 ±0.06	4.61 ±0.14	58.83
AT-70	7.41 ±0.79	2.29 ±0.04	7.02±0.02	20.67 ±0.62	4.36 ±0.16	58.24
AT-80	8.95 ±0.10	2.22 ±0.04	7.02±0.08	19.17 ±0.60	4.04 ±0.20	58.60

Nota: El porcentaje de carbohidratos se obtuvo por diferencia.

Bressani y Garciavela (1990) determinaron porcentaje de proteína en dos variedades (4 y 5) de *A. hypochondriacus*, utilizando el factor de conversión de 6.25, como en este estudio, reportaron valores de 14.7 y 15.9 % para la variedad 4 y 5.

Calzetta Resio *et al.* (1999) reportaron 16.8 % de proteína, 3.1 % de ceniza, 7.7 % de grasa y 73 % de almidón, para *A. cruentus*, cifras diferentes a las encontradas.

Bressani *et al.* (1992) reportaron para variedades de *A. hypocondriacus*, una humedad de 10 a 14 %, carbohidratos de 59.5 a 65 %, grasa de 6.3 a 6.9 y cenizas de 2.3 a 3.1 %. También estimaron la cantidad de proteína en las variedades procesadas con diferentes tratamientos térmicos, que en cocción húmeda mostraron un incremento en el porcentaje de proteína en 5 de las 6 variedades estudiadas.

## 8.2 Contenido de almidón total

González *et al.*, (2007b) indicaron que el almidón ocupa 630 g/kg en el amaranto y dadas sus características, es posible separarlo en forma mecánica selectiva del resto de los componentes, también se puede obtener una fracción rica en proteína superior a 40 %, otra rica en fibra dietética y una más que contiene 79 % de almidón. Reportaron 770 g/kg de almidón en base seca en *A. cruentus*.

**Cuadro 9.** Almidón en *A. hypocondriacus* con diversos tratamientos.

Muestra	% de almidón
Nativo	52.81
Hidrolizado	52.42
AT-60	52.27
AT-70	50.53
AT-80	50.01
Almidón 98	94.18

Para *A. hypocondriacus* existen reportes de porcentajes inferiores en almidón que para *A. cruentus*. En este trabajo el amaranto tratado térmicamente (ATT) mostró 2 % menos de almidón que el grano nativo. Los carbohidratos de las muestras de ATT

tienen ligera concentración mayor que el nativo, se esperaría una tendencia similar dado que teóricamente se asocia a los carbohidratos totales con el contenido de almidón, aunque se puede encontrar presencia de rafinosa y sacarosa. Becker *et al.* (1981) reportaron 52 % de carbohidratos con pequeños porcentajes de dichos azúcares. Posiblemente algo similar ocurrió en este estudio en el tratamiento del grano, se pudo haber concentrado estos carbohidratos, y haber pérdidas en el agua en los lavados, de ahí las diferencias en el porcentaje final.

### **8.3 Poder de hinchamiento y solubilidad**

Cuando se calienta una suspensión acuosa de almidón, los gránulos se hinchan por una absorción progresiva e irreversible de agua lo que aumenta su tamaño. La determinación de estos índices se mide aprovechando la capacidad de absorción del agua por el gránulo de almidón y la exudación de fracciones de almidón a medida que se incrementa la temperatura de dichas suspensiones. Estas muestras de amaranto presentaron un incremento en la absorción de agua, como se observa en el cuadro 10, influenciada por los tratamientos térmicos.

La absorción de agua del amaranto nativo fue 3.25 % inferior al AT-80, tratamiento que más absorbió. Todos los tratamientos AT absorbieron agua en cantidad comparable. El almidón soluble fue superior en la muestra AT-60, lo que representó más de 5 veces que en el almidón nativo y más de dos veces que el hidrolizado (Cuadro 10). En el amaranto AT-80, la absorción de agua fue la más alta, y no hubo relación directa con el almidón soluble dado que AT-60 y AT-70 tuvieron el mayor porcentaje.

**Cuadro 10.** Absorción de agua y solubilidad del almidón de amaranto.

Muestra de almidón	Absorción de agua (g/g)	% Almidón soluble
Nativo	13.56 ±0.07	6.23 ±0.04
Hidrolizado	15.67 ±0.03	14.57 ±0.31
AT-60	16.57 ±0.14	33.63 ±0.52
AT-70	16.72 ±0.01	31.04 ±0.15
AT-80	16.81 ±0.11	27.38 ±0.22

Rodriguez *et al.*, (2015) analizaron almidón de amaranto hidrolizado y extruido, la absorción de agua fue mayor en 3 y 15 % respecto al almidón natural, un comportamiento similar se observó para la solubilidad, de 11.56 y 29.41 %. Concluyeron que la hidrólisis y la molienda mejoraron la absorción de agua y la solubilidad del almidón. Esto se asoció con la pérdida de orden estructural, lo que facilitó la penetración de agua y al aumento de la superficie debido a la reducción del tamaño de partícula. Huang *et al.* (2007) reportaron valores de solubilidad de 20 y 50 % en almidones de yuca y maíz.

La figura 10 muestra el amaranto nativo (color café), hidrolizado (café claro) y el hidrolizado y tratado térmicamente, cuyo color pasó a un tono blanco y se formaron biopelículas plásticas.



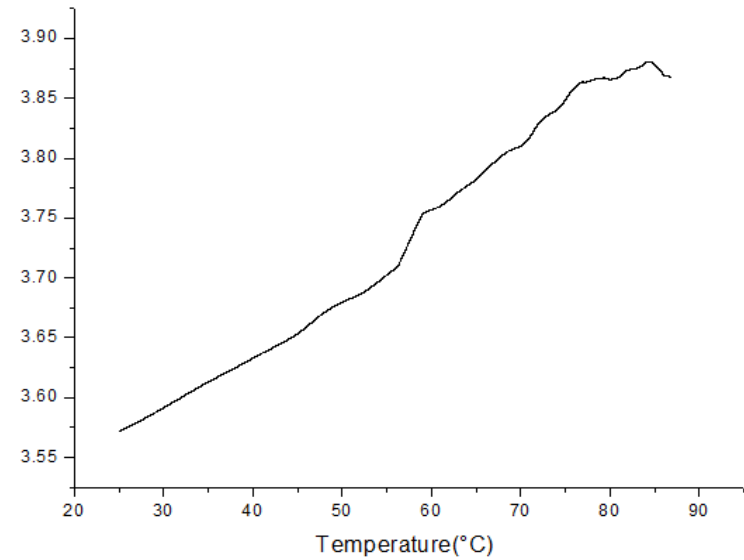
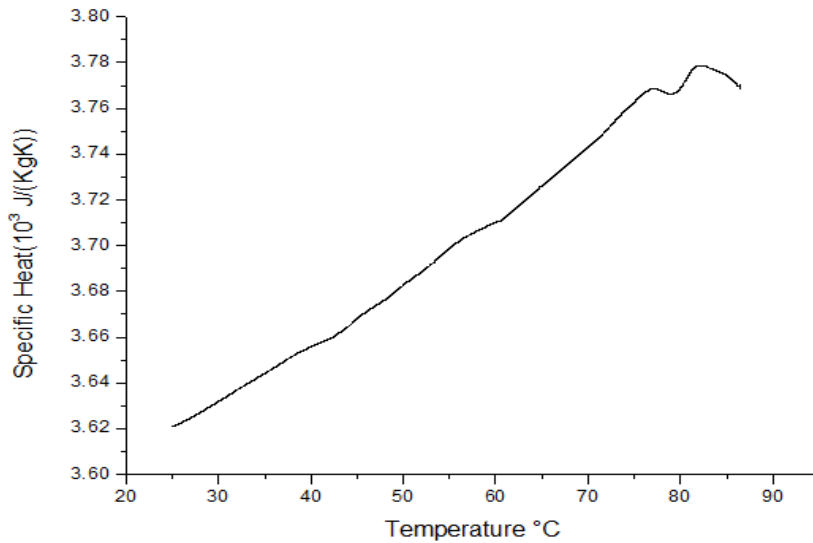
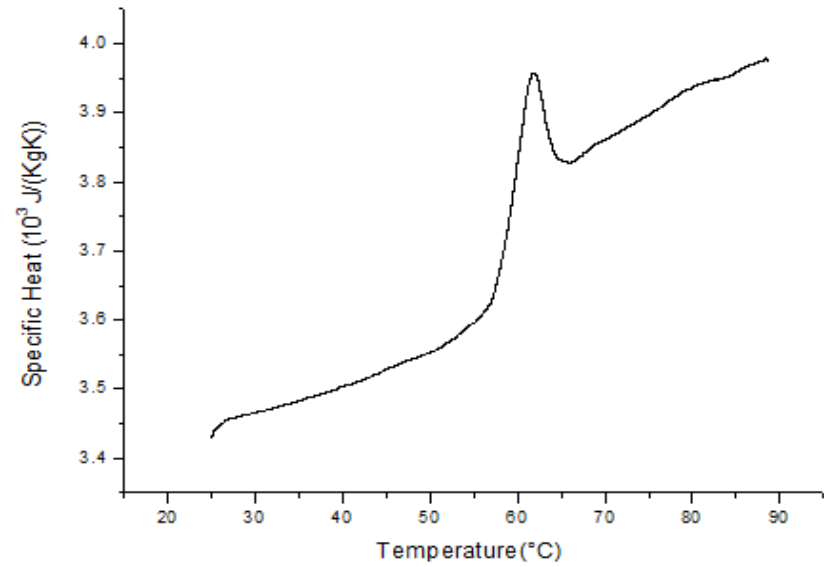
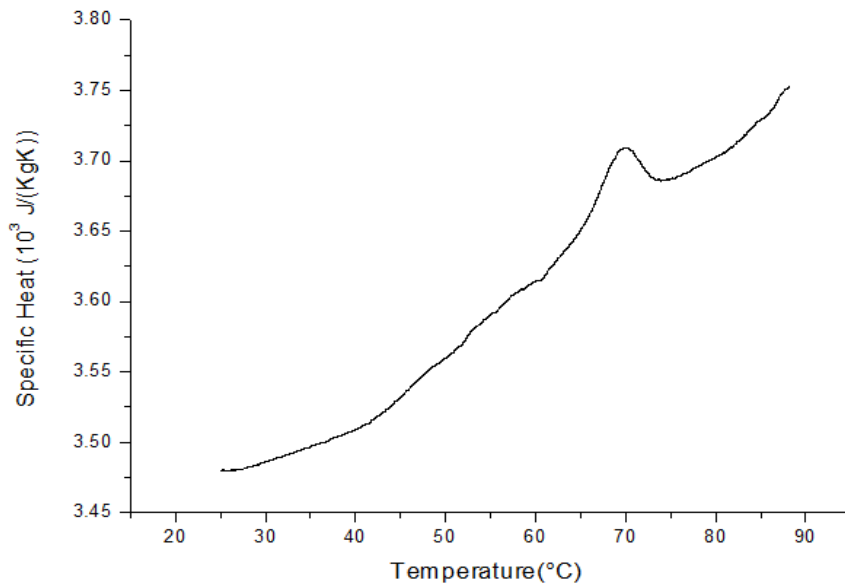
**Figura 10.** Almidón soluble de amaranto nativo-hidrolizado-tratado térmicamente.

Kong *et al.* (2009) obtuvieron el poder de hinchamiento (PH) y almidón soluble (AS) de 15 cultivares de amaranto tratado a diferentes temperaturas. El PH a 85°C fue de 9.1 a 20.0 g.g<sup>-1</sup> y el AS a 85 °C de 16.1 % a 95.3 %.

#### **8.4 Calor específico**

El calor específico es la cantidad de calor que se necesita por unidad de masa para elevar un grado centígrado la temperatura. No se encontraron reportes de la determinación del calor específico de *A. hypochondriacus* con un calorímetro adiabático; existen estudios realizados con calorímetro diferencial de barrido.

La figura 11 muestra los termogramas de Calorimetría Adiabática (ASC) de amaranto nativo y tratado térmicamente a 60, 70 y 80 °C. Se observa la temperatura pico de 71.0 °C para el amaranto nativo, similar a lo reportado por Loubes *et al.* (2012) en muestras de almidón de amaranto obtenido en condiciones de remojo y analizadas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).



**Figura 11.** Termogramas de ASC de a) amaranto nativo y tratado térmicamente b) 60 °C, c) 70°C y d) 80 °C.

Los valores de entalpía obtenidos para este almidón fueron comparables a los reportados en la literatura para los almidones de amaranto. Sin embargo, las temperaturas de gelatinización resultaron significativamente inferiores (amaranto nativo de 70 °C y tratado térmicamente de 60 a 67 °C) a los reportados (Blacido, 2006; Calzetta-Resio, 2001) para el almidón de amaranto obtenido por el método de aislamiento alcalino, de 73.1 y 73.3 °C. El almidón de amaranto obtenido por Blacido (2006) contenía 13 g.100 g<sup>-1</sup> de amilosa, y Loubes *et al.* (2012) reportaron 6.57 g.100 g<sup>-1</sup>; en este trabajo la modificación del grano de amaranto incluye almidón y otros compuestos como proteína, se esperaría que la temperatura de gelatinización fuera mayor en el amaranto tratado (AT); sin embargo, en el AT a 60°C es menor, y su calor específico fue mayor, se intuye que este valor dependió de la modificación, y que a esta temperatura el almidón debiera tener mayor retención de agua, y por tanto el aumento del calor específico, y una disminución en su temperatura de gelatinización.

El método de aislamiento (alcalino, ácido o molienda húmeda), la variedad de amaranto, el contenido de amilosa, el tratamiento de modificación, y otros factores, influyen de manera significativa en el comportamiento térmico del almidón. Los termogramas del amaranto tratado a 70 y 80 °C, muestran que su tendencia no es similar al tratado a 60 °C, lo que indica que la temperatura aplicada cambió las propiedades del amaranto, y no hubo cambio de fase en el intervalo analizado de temperatura, debido probablemente, a que los almidones se encontraban totalmente gelatinizados, o las temperaturas de inicio, pico y final, aumentarían, lo cual no pudo ser observado a la temperatura que maneja el calorímetro adiabático

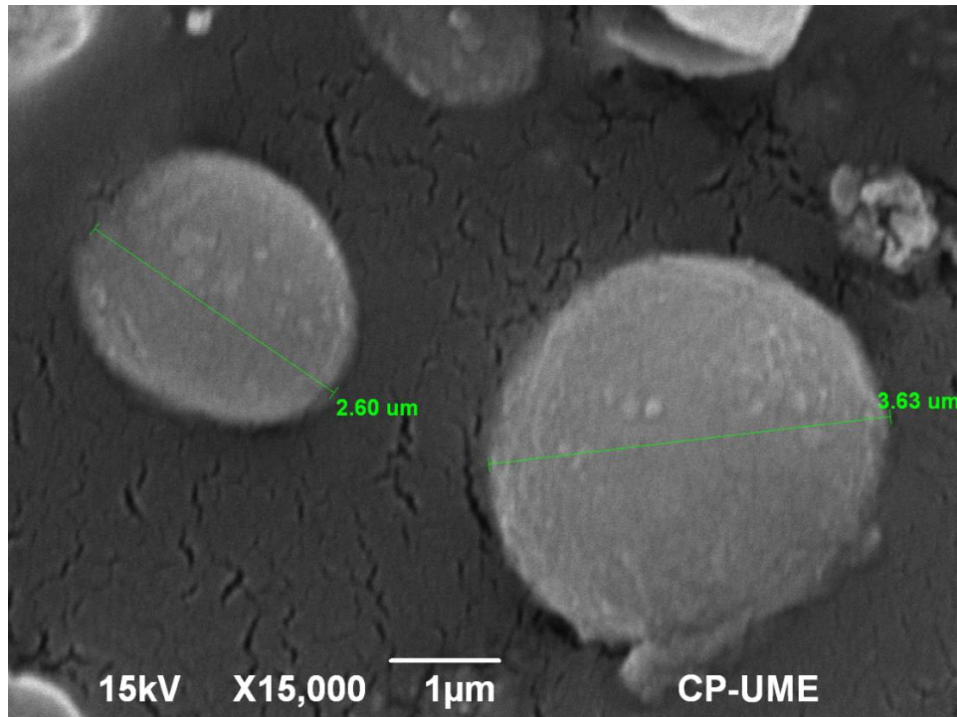


utilizado, y la cristalización, como lo muestran las imágenes del microscopio, los cristales crecieron con el aumento de temperatura de 60 a 80 °C.

Singh *et al.* (2014) determinaron las temperaturas de transición ( $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_c$ ) y entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ) de los almidones extraídos de diferentes líneas de *Amaranthus*; almidones de *A. hypochondriacus*  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_c$  fueron de 63.20 a 70.01 °C, de 68.88 a 72.88 °C y de 74.47 a 76.95 °C; para *A. caudatus* de 60.46 a 63.28 °C, de 65.05 a 67.05 °C y de 70.93 a 74.40 °C; concluyeron con correlación positiva que el almidón con mayor cristalinidad requiere más energía para cambiar de fase. La temperatura de gelatinización se ha relacionado con la cristalinidad, los almidones con menor estructura cristalina y menos perfectos tienen una menor  $T_o$  y  $\Delta H$ . La cantidad de cadenas muy cortas de amilopectina ( $DP \leq 10$ ) han sido correlacionadas negativamente con  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_c$ , cadenas de hélices cortas se sitúan en la parte externa de la estructura cristalina, probablemente no forman estructuras estables de doble hélice debido a sus cortas longitudes, por lo tanto, es interrumpido fácilmente por el calor a temperatura más baja.

### **8.5 Microestructura de amaranto en microscopio de barrido**

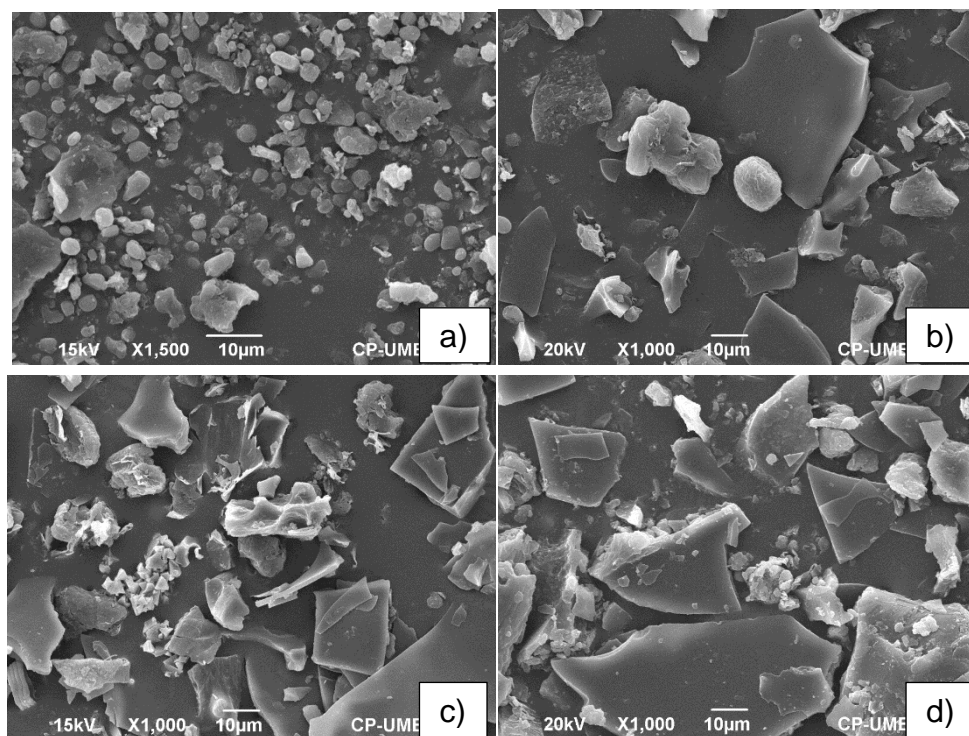
La mayoría de los gránulos de almidón de amaranto cuando se observan al microscopio electrónico aparecen claramente poligonales. En estudios con *A. hypochondriacus* y *A. caudatus* los gránulos varían de 1 a 3  $\mu m$  en diámetro (Paredes-López *et al.*, 1988). En la figura 12 se puede observar que el almidón de amaranto no aparece con forma poligonal más bien esférica, pero sí tuvieron el tamaño de partícula que se reporta.



**Figura 12.** Almidón nativo de amaranto en microscopio electrónico de barrido (SEM).

La figura 13 muestra imágenes (a, b, c, d) del amaranto nativo y el tratado térmicamente a una resolución de 10 micras. En la imagen a) se aprecia mejor los gránulos de almidón y se pueden distinguir otras aglomeraciones irregulares que podrían ser proteína, fibra u otros compuestos unidos al almidón, ya que para aprovechar las propiedades del amaranto se molió y tamizó el grano completo.

Las imágenes b), c) y d) muestran el amaranto tratado térmicamente (ATT), se aprecia el cambio en la estructura del almidón. En la imagen b) ATT-60°C se observan algunas aglomeraciones esféricas y otras que perdieron la forma.



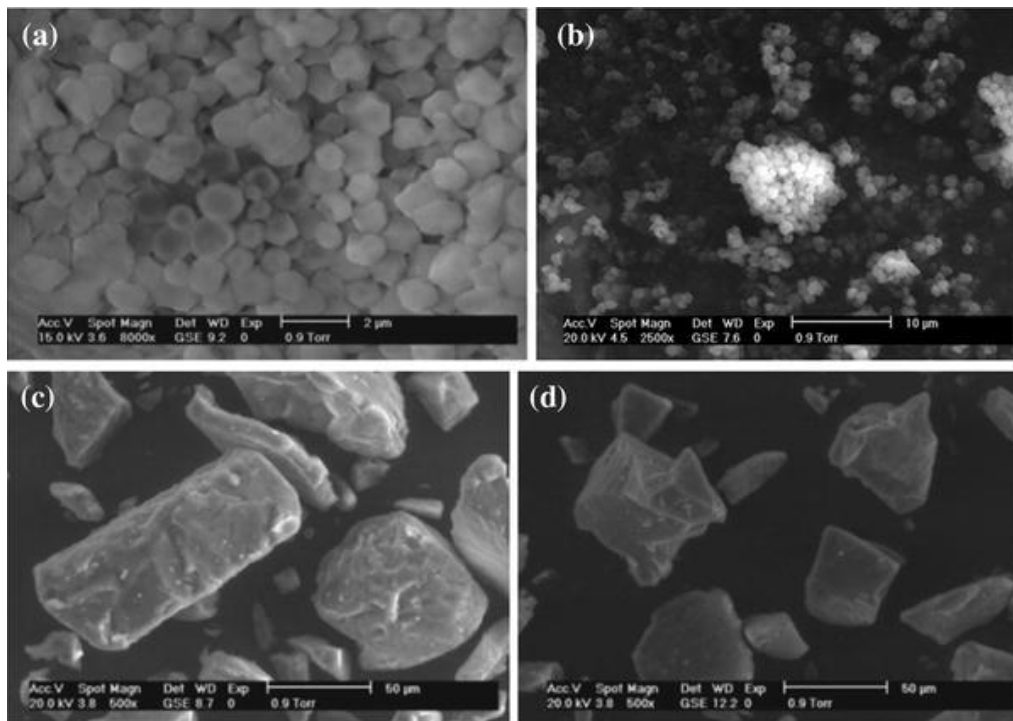
**Figura 13.** *A. hypochondriacus* observado a 10 micras: a) amaranto nativo; b) amaranto tratado térmicamente (ATT) a 60 °C; c) ATT a 70 °C y d) ATT a 80 °C.

Las aglomeraciones esféricas, en este caso, superan el tamaño reportado del almidón nativo. Resultados similares reportaron Rodríguez *et al.* (2015), lo que permite considerar que son almidones modificados que aumentan su tamaño antes de su cristalización, dado que al aumentar la temperatura de tratamiento ya no se observan estas figuras esféricas (ATT-70 °C) y aumentan los cristales, así como el tamaño de éstos.

Kiatponglarp *et al.* (2015) analizaron el proceso de cristalización de los almidones resistentes, resultado de una reasociación de las cadenas de amilosa en forma de doble hélice, esta estructura cristalina ha sido identificada en tratamientos hidrotermales, de ciclos autoclave-enfriamiento y en ciclos de temperatura, los

cuales han sido utilizados para modificar las propiedades físicas y de digestibilidad del almidón.

La figura 14 muestran imágenes reportadas por Rodriguez *et al.* (2015) en resoluciones de 2 y 10 micras. Las imágenes a) y b) son de almidón nativo de amaranto, comparables a las obtenidas en este trabajo. El tamaño de los gránulos de almidón reportado por los autores fue de 1.29 micras, forma poligonal con bordes redondeados, sin grietas, daños o grumos por la extracción alcalina. En este caso, los gránulos de almidón hidrolizados mostraron daños en la superficie, algunos de ellos perdieron su forma original y otros permanecieron intactos.



**Figura 14.** Almidón de amaranto nativo y extruido (Rodriguez *et al.*, 2015).

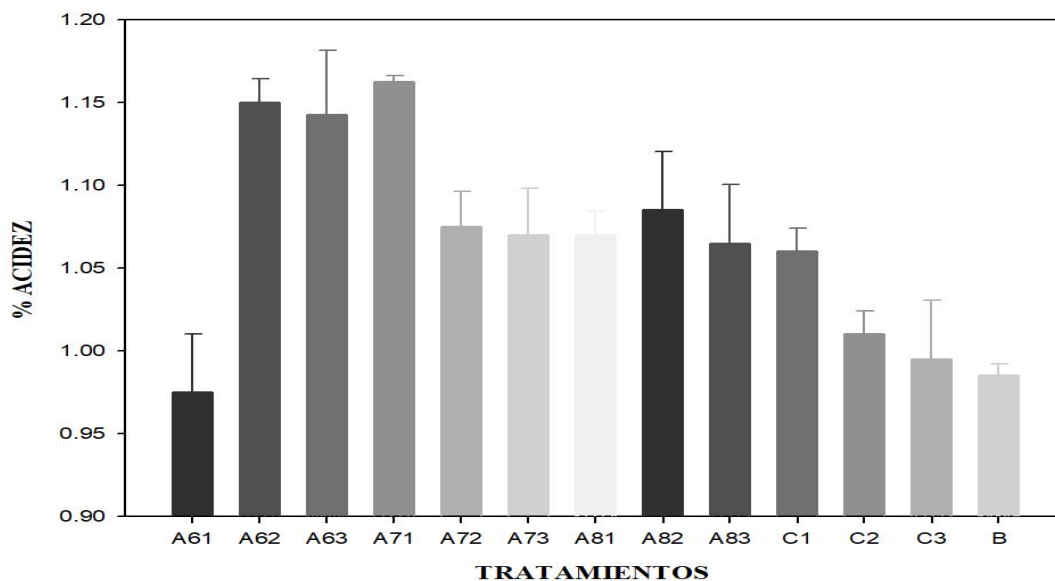
El almidón de amaranto ha recibido atención por sus gránulos pequeños (1-3  $\mu\text{m}$ ), la presencia de amilopectina (95-100 %) y su forma esférica o poligonal, lo que le confiere propiedades excelentes de importancia en la industria alimentaria y no alimentaria como revestimientos de grasa y de papel.

*A. hypochondriacus* muestra diversidad en la estructura de la amilopectina, como distribución del tamaño de gránulo, propiedades térmicas y reológicas. Los almidones de *A. hypochondriacus* mostraron la mayor proporción de gránulos de tamaño de 1-10 micras (Singh *et al.*, 2014).

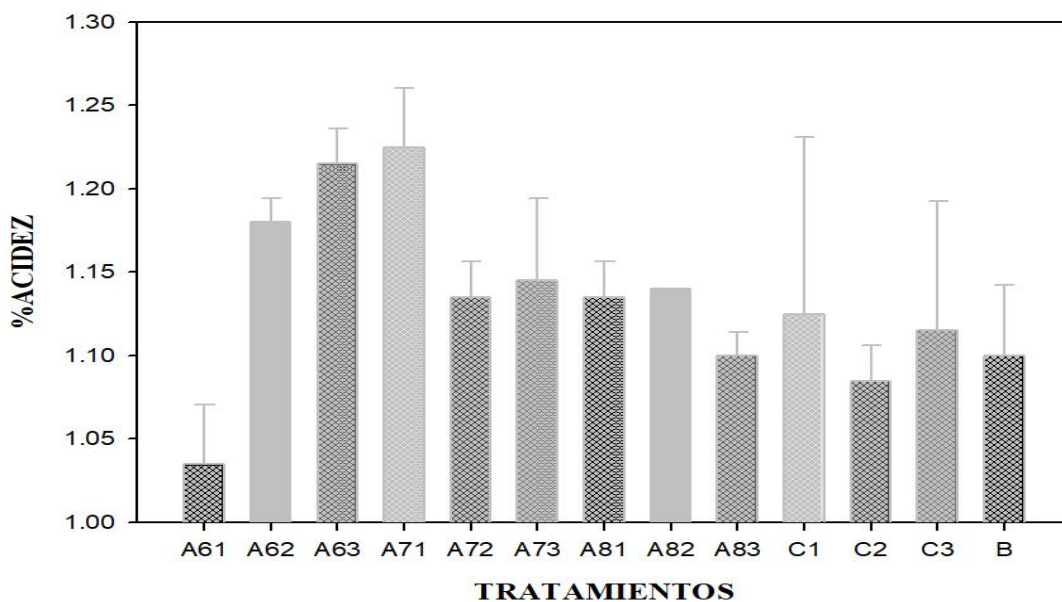
## **8.6 Acidez y pH de la bebida láctea**

La caseína representa alrededor de 80 % del contenido de proteína de la leche bovina. En la elaboración del yogur disminuye el pH lo que provoca una aglomeración de la caseína. Existen diversas formas de acidificar la leche, como la fermentación láctica con bacterias específicas.

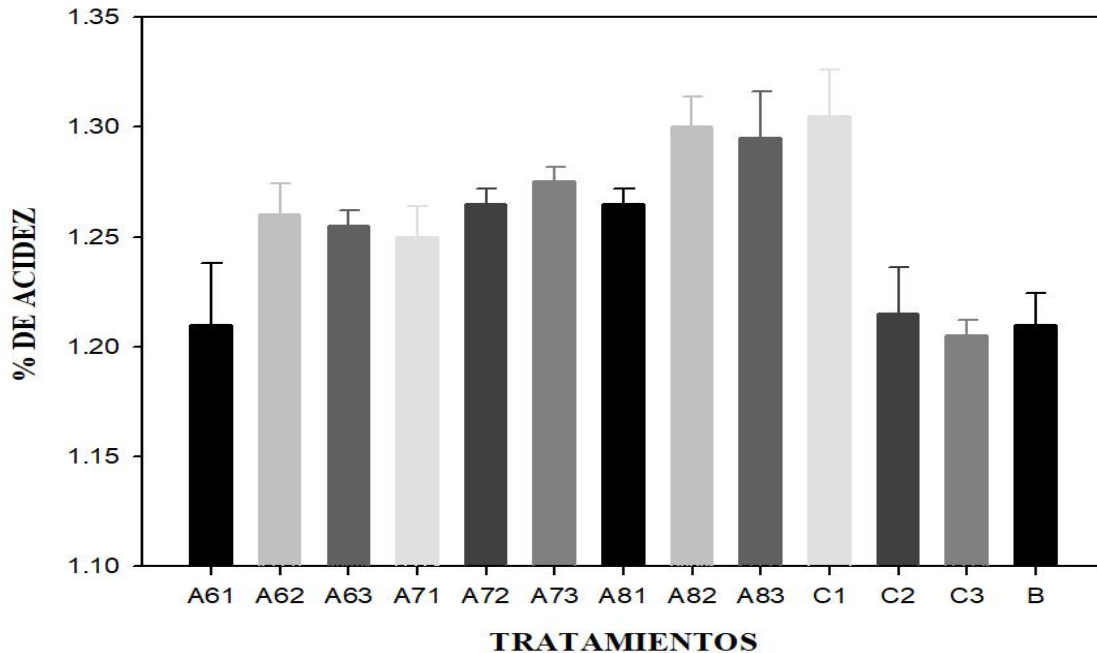
Las figuras 15, 16 y 17 muestran el desarrollo de la acidez titulable en tres periodos, a 1, 15 y 30 días después de inoculación en los 13 tratamientos, con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a tres temperaturas 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y el testigo (B). Las bebidas lácteas con ATT tuvieron significativamente mayor acidez que el testigo y las de CMC ( $p < 0.0001$ ). La norma oficial mexicana establece mínimo 0.5 % de acidez expresada como ácido láctico para bebidas lácteas fermentadas, estas bebidas superaron este porcentaje el primer día.



**Figura 15.** Acidez titulable en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B). Día 1.



**Figura 16.** Acidez titulable en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B). Día 15.



**Figura 17.** Acidez titulable en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B). Día 30.

El día 15 la diferencia de acidez entre tratamientos disminuye ( $p > 0.0472$ ). El amaranto acelera la fermentación el día 1, y en un periodo de 15 días se refleja la escasez de lactosa (Figura 16). El día 30 la acidez no mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0.0001$ ), esta fue elevada (de 1.2 a 1.3 %) respecto a la reportada por Hernández-Carranza (2004) de 0.24 a 0.74 %.

Codina (2016) evaluó la acidez titulable en yogur con diferentes concentraciones de harina de quínoa (0 a 2.0 %). Las muestras suplementadas presentaron pH más bajo y mayor acidez que el control. Esto refleja la influencia de la harina de quínoa en el desarrollo de los microorganismos y posiblemente a los ácidos amino (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010) y el contenido mineral (Konishi *et al.*, 2004) de la harina de quínoa, necesarios para el crecimiento del cultivo láctico del yogur. El

cuadro 11 muestra los valores de pH (de 3.8 a 4) de las bebidas lácteas, las cuales no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, en los tres periodos evaluados. Codina (2016) reportó resultados similares.

**Cuadro 11.** pH de yogur suplementado con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C y carboximetilcelulosa (CMC).

Tratamiento	Día		
	1	15	30
A61	3.8	3.85	4
A62	3.8	3.9	4
A63	3.8	3.9	4
A71	3.8	3.9	4
A72	3.8	3.9	4
A73	3.8	3.9	4
A81	3.8	3.9	4
A82	3.8	3.9	4
A83	3.8	3.9	4
C1	3.8	3.9	4
C2	3.8	3.9	4
C3	3.8	3.9	4
B	3.8	3.9	4

Karimi (2016) evaluó el pH y la estabilidad de bebidas de leche ácida y no ácida, definidos por la interacción de la caseína, polisacáridos, pH, composición iónica del medio, velocidad de calentamiento. El pH más bajo fue para los tratamientos con mayor porcentaje de CMC, pectina y su mezcla.

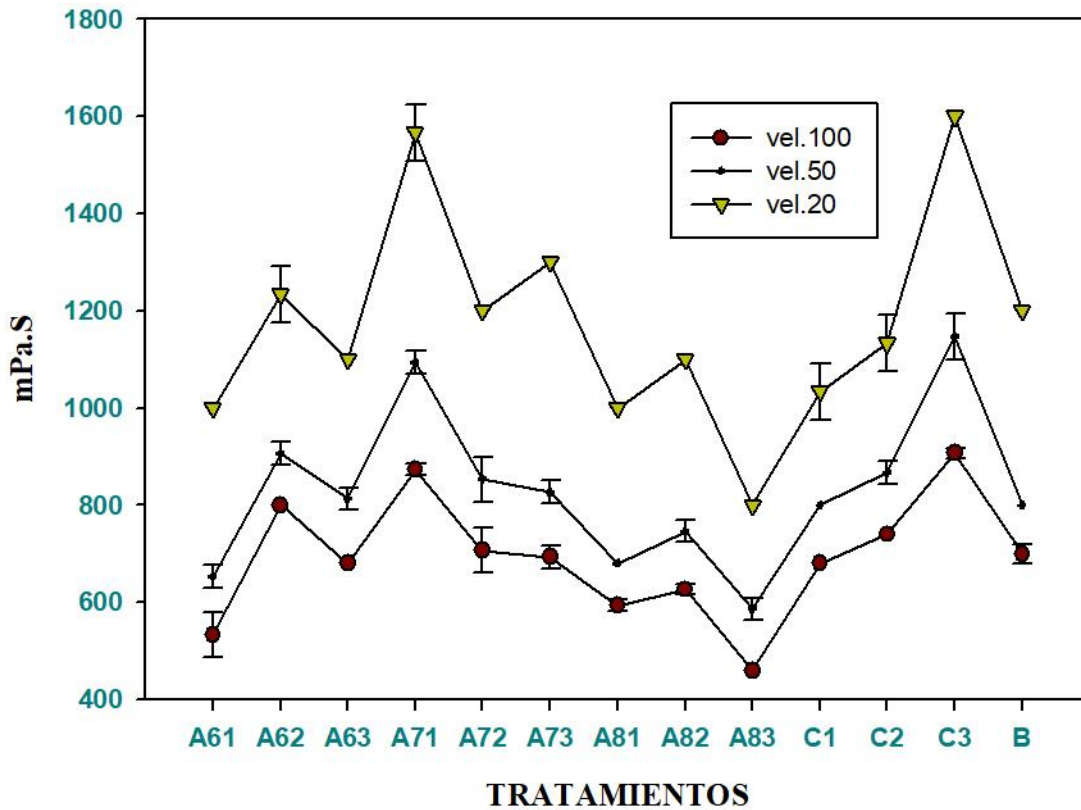


## 8.7 Viscosidad en bebida láctea con ATT

La viscosidad es la propiedad termo-física de los fluidos ocasionada por sus fuerzas de cohesión molecular y resulta de la resistencia al escurrimiento, por lo que requieren la aplicación de un esfuerzo o presión. Todos los fluidos conocidos presentan viscosidad, el modelo de viscosidad nula es una aproximación a ciertas aplicaciones.

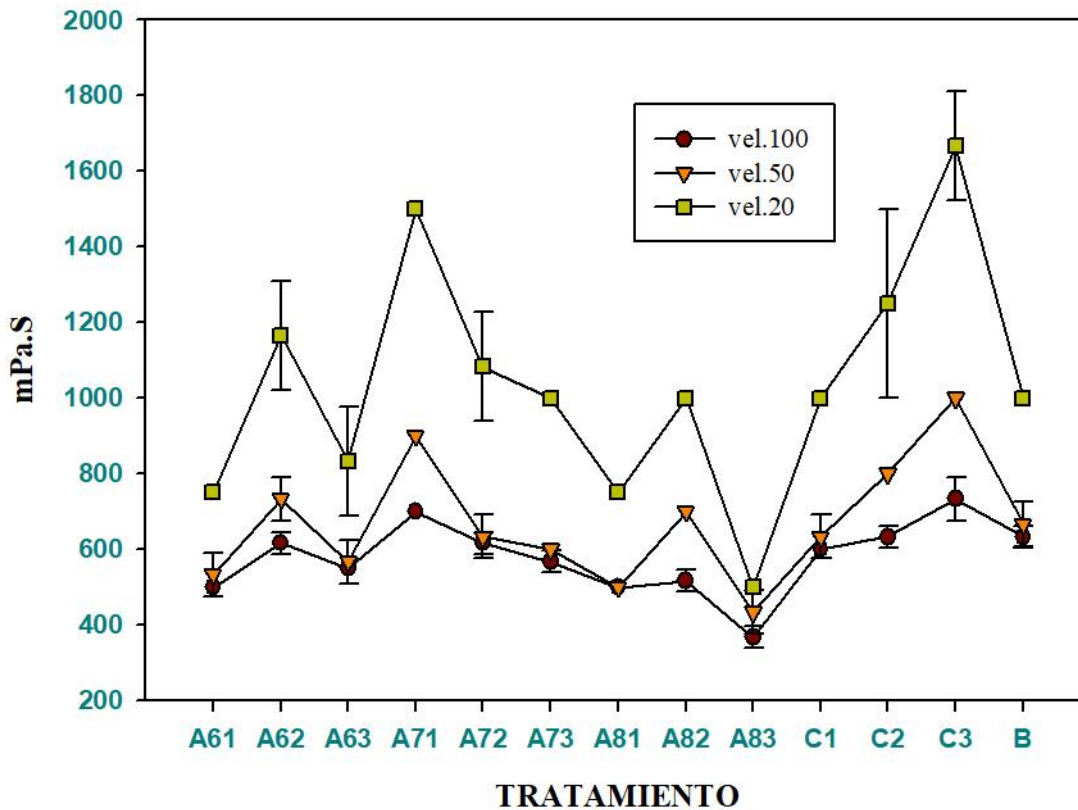
La figura 18 muestra la viscosidad de las bebidas lácteas adicionadas con ATT. Con la velocidad de cizallamiento de 100 la viscosidad es menor que con velocidad de cizallamiento de 20, al disminuir ésta, las bebidas tuvieron mayor dispersión, con diferencias de 1200 mPa.s; a velocidad de 100 la diferencia fue de 400 mPa.s; para 50 la diferencia fue de 600 mPa.s. Las bebidas con CMC a 0.3 % presentaron mayor viscosidad, seguida por ATT-70 a 0.1 % y CMC a 0.2 %. De acuerdo a lo reportado, se esperaba que todas las muestras adicionadas con harina de amaranto tuvieran una disminución considerable en la viscosidad con respecto al testigo y la CMC, debido a la carga que representan los sólidos del amaranto.

La viscosidad evaluada en tres velocidades mostró diferencias significativas ( $p < .0001$ ), entre tratamientos. El amaranto contribuyó a tener mayor viscosidad (Figura 18).



**Figura 18.** Viscosidad con aguja n° 5 en bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B).

Codina (2016) evaluó el efecto de diversas concentraciones de harina de quínoa en yogur y la velocidad de cizallamiento de 2.57 a 70.2 ( $1.s^{-1}$ ). El valor de tensión de corte disminuyó al aumentar la quínoa de 0.2 a 2.0 % en comparación con la muestra control. Esto pudo deberse al efecto de la harina de quínoa sobre la agregación de la caseína que dio lugar a la gelificación (Marjan *et al.*, 2011). Los fragmentos de gel pierden gran cantidad de disolvente intersticial, lo que conlleva, a un menor número de enlaces intermoleculares (Walstra *et al.*, 1999). En este caso, la modificación del amaranto definió la resistencia al corte (Figura 18 y 19).



**Figura 19.** Viscosidad con aguja n° 6 de bebida láctea fermentada con 0.1, 0.2 y 0.3 % de amaranto tratado a 60, 70 y 80 °C (A61... A83) y carboximetilcelulosa (C1...C3) y testigo (B).

Las bebidas fermentadas mostraron una disminución de la viscosidad aparente al aumentar la velocidad de cizallamiento probablemente debido al posible rompimiento de la estructura en solución (Karazhiyan *et al.*, 2009). Codina (2015) reportó que esto refleja el comportamiento de un fluido no newtoniano, Yang *et al.* (2012), indican que estos productos son pseudo-plásticos (no newtoniano).

Muy probable el almidón de amaranto tratado a 80 °C cambió las propiedades estructurales, que no permitieron un enlace con la fase líquida del yogur y se destruyó la cuajada y pérdida de suero que se observará en la sinéresis,

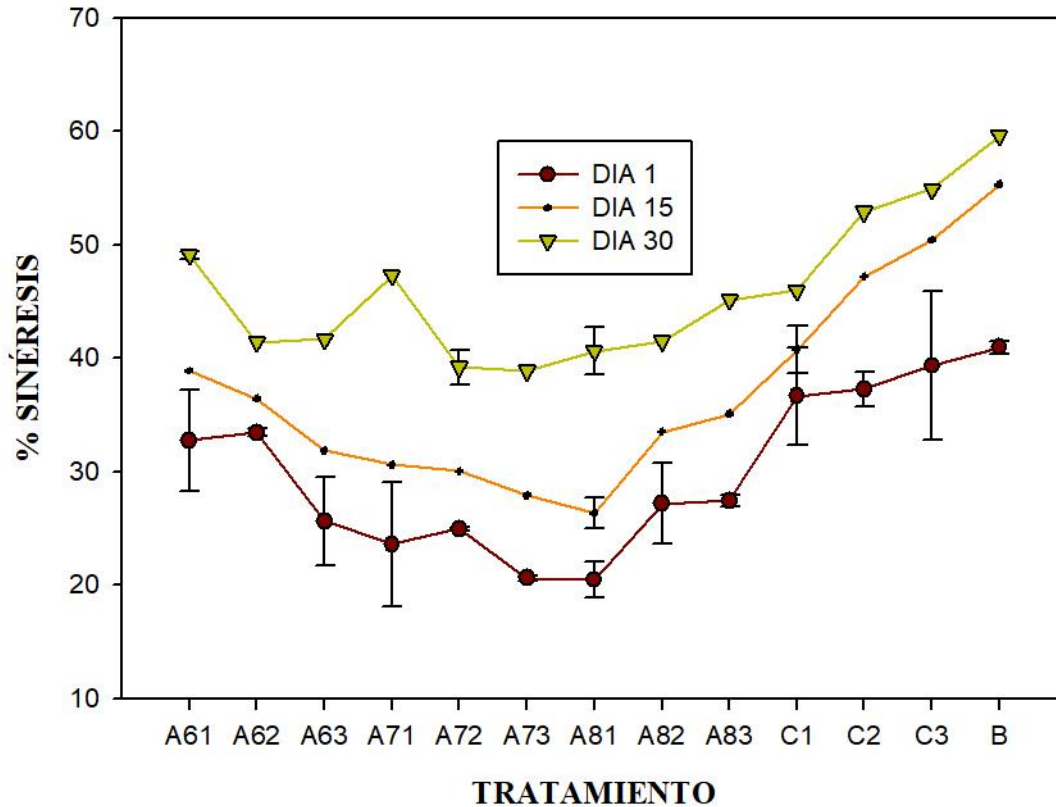
## 8.8 Grado de sinéresis

La industria láctea, en la producción de yogur, evalúa nuevos procedimientos de fermentación, incluye la incorporación de acidificantes, emulsionantes, colorantes, entre otros; sin embargo, esto puede afectar la carga de la matriz formada durante el proceso y separar las partículas causando una inestabilidad (Amice-Quemeneur *et al.*, 1995) y apreciarse una separación de suero.

Kiani *et al.* (2010) evaluaron la sinéresis de una bebida láctea fermentada con goma gellan y pectina de alto metoxilo como estabilizante y encontraron una correlación entre el porcentaje de goma añadido y la separación de suero.

La figura 22 muestra el porcentaje de sinéresis de los 13 tratamientos, se observa que al aumentar la concentración de harina de amaranto, la sinéresis fue menor que en el testigo, en ATT a 60 y 70°C. En caso de las muestras con ATT a 80°C hubo una relación negativa, similar a la mostrada en su capacidad de absorción de agua, muy posiblemente por el efecto de la temperatura sobre la solubilidad y la presencia de proteína desestabilizaron la matriz. Las bebidas con CMC muestran mayor sinéresis al aumentar la concentración. El día 1, no hubo diferencias significativas ( $p > 0.0002$ ) entre las bebidas fermentadas.

Los días 15 y 30 las bebidas mostraron diferencias significativas ( $p < .0001$ ), todas aumentaron el porcentaje de sinéresis, aquellas con CMC tuvieron el porcentaje más alto, seguido por el testigo. Muy probable por la capacidad de formación de enlaces, favorecido en las bebidas con amaranto, por el almidón, la fibra y la proteína y el aumento de la acidez (Figura 22).



**Figura 20.** Sinéresis (1, 15 y 30 días) de bebida láctea adicionada con amaranto.

La sinéresis es la separación de suero del yogur sin aplicar fuerza externa y es un parámetro a considerar, principalmente en el periodo de almacenamiento del producto, lo que deprecia su calidad (Codina, 2016; Peng *et al.*, 2009).

Las normas mexicanas no especifican el porcentaje máximo de sinéresis en una bebida láctea; sin embargo, está asociada a la calidad del producto. Hernández-Carrasco (2004) analizó el porcentaje de sinéresis de diferentes tipos de yogur comercial, reportó de 31 al 82 %.

## 8.9 Análisis microbiológicos

Las muestras con CMC y el testigo mostraron crecimiento de 68 a  $72.7 \times 10^7$  ufc. La NMX-F-703-COFOCALEC-2012 establece un mínimo de  $10^6$  ufc en punto de venta y  $10^7$  después de la fermentación, previo a cualquier proceso de pasteurización. Las bebidas con amaranto tuvieron un crecimiento muy adecuado de los microorganismos (Cuadro 11).

Cuadro 12. Bacterias lácticas en yogur probiótico con amaranto.

Muestra	M17/ UFC	MRS/UFC
B	$19.5 \times 10^7$	$72.7 \times 10^7$
A61	$125 \times 10^7$	$161 \times 10^7$
A62	$126 \times 10^7$	$208 \times 10^7$
A63	$120 \times 10^7$	$177 \times 10^7$
A71	$131 \times 10^7$	$190 \times 10^7$
A72	$121 \times 10^7$	$210 \times 10^7$
A73	$145 \times 10^7$	$193 \times 10^7$
A81	$102 \times 10^7$	$194 \times 10^7$
A82	$101 \times 10^7$	$165 \times 10^7$
A83	$92 \times 10^7$	$164 \times 10^7$
C1	$25 \times 10^7$	$78 \times 10^7$
C2	$24 \times 10^7$	$63 \times 10^7$
C3	$25 \times 10^7$	$68 \times 10^7$

El yogur con ATT 60 tuvo el mayor crecimiento de bacterias lácticas. Pokusaeva *et al.* (2011) analizaron la capacidad de bifidobacterias para degradar carbohidratos, almidones resistentes, celulosa, hemicelulosa, glicógeno, galactano, xilano, entre otros. El amaranto fomenta el crecimiento de las bacterias lácticas.

## 9. CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que existió una modificación en la estructura interna del grano y del almidón. El grano de amaranto tratado térmicamente presentó las mismas características que el almidón modificado de amaranto y que de otras fuentes, lo cual quiere decir que es posible no realizar la separación del almidón de amaranto para ser modificado.

El proceso de elaboración de las bebidas lácteas fermentadas confirmó las pruebas de funcionabilidad realizadas al grano de amaranto, algunas muestras del grano tratado térmicamente y sus concentraciones en las bebidas fermentadas presentaron una mayor viscosidad que las muestras testigo sin aditivo. También se observó que debido a la adición probablemente de *Bifidobacterium* tuvimos una mayor concentración de microorganismos ácido lácticos que en las muestras con CMC y el testigo.

El amaranto tratado térmicamente representa una opción viable en la modificación del almidón, al ser una fuente rica en proteínas. También es una fuente de enriquecimiento nutricional para este tipo de bebidas, lo que permitió el desarrollo de bacterias lácticas probióticas de importancia en la dieta del ser humano.

## 10. LITERATURA CITADA

- Amicequemeneur, N., Haluk, J. P., Hardy, J. and Kravtchenko, T. P. 1995. Influence of the acidification process on the colloidal stability of acidic milk drinks prepared from reconstituted nonfat dry milk. *Journal of Dairy Science* 78: 2683-2690.
- Ashogbon, A. O. and Akintayo, E. T. 2014. Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: A review. *Starch-Starke* 66:41-57.
- Becker, R., Wheeler, E. L., Lorenz, K., Stafford, A. E., Grosjean, O. K., Betschart, A. A. and Saunders, R. M. 1981. A compositional study of amaranth grain. *Journal of Food Science* 46:1175-1180.
- Bello G. J. 2000. Aditivos Alimentarios. En: *Ciencia Bromatológica: Principios generales de los alimentos*. Ed. Díaz de Santos. 596 p. <https://es.slideshare.net/DesireSomale/ciencia-bromatologica-principiosgeneralesdelosalimentosmedilibroscom>.
- Bressani, R., Demartell, E. C. M. and Degodinez, C. M. 1993. Protein-quality evaluation of amaranth in adult humans. *Plant Foods for Human Nutrition* 43: 123-143.
- Bressani, R. and Garciavela, L. A. 1990. Protein-fractions in amaranth grain and their chemical characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38:1205-1209.
- Bressani, R., Sanchezmarroquin, A. and Morales, E. 1992. Chemical-composition of grain amaranth cultivars and effects of processing on their nutritional quality. *Food Reviews International* 8:23-49.
- Bruce, T. y Steven, Y. 2009. Estabilizadores en los alimentos. *Industria Alimenticia* <http://www.industriaalimenticia.com/articulos/estabilizadores-en-los-alimentos>.
- C., E. E. M. 2010. Rescate y revaloración del cultivo de amaranto. In: UNA, I. I. D. C. P. L. (ed.). *Servicio de información agroalimentaria y pesquera*.
- Calzetta Resio, A., Aguerre, R. J. and Suarez, C. 1999. Analysis of the sorptional characteristics of amaranth starch. *Journal of Food Engineering* 42:51-57.
- Che, L. M., Li, D., Wang, L. J., Chen, X. D. and Mao, Z. H. 2007. Micronization and hydrophobic modification of cassava starch. *International Journal of Food Properties* 10:527-536.
- Corsi, A., Milchev, A., Rostiashvili, V. G. and Vilgis, T. A. 2007. Interface stability and copolymers: Application to food systems. *Food Hydrocolloids* 21:870-878.
- Costa, A. V. S., Nicolau, E. S., Torres, M. C. L., Fernandes, P. R., Rosa, S. I. R. and Nascimento, R. C. 2013. Development and physical-chemical, microbiological and sensory characterization of fermented dairy beverage



- prepared with different stabilizers/thickener. *Semina-Ciencias Agrarias* 34: 209-226.
- Costea, M. and Demason, D. A. 2001. Stem morphology and anatomy in *Amaranthus L.* (Amaranthaceae) - Taxonomic significance. *Journal of the Torrey Botanical Society* 128:254-281.
- Cruz-Orea, A., Pitsi, G., Jamee, P. and Thoen, J. 2002. Phase transitions in the starch-water system studied by adiabatic scanning calorimetry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:1335-1344.
- Espitia, E. 1992. Amaranth germplasm development and agronomic studies in Mexico. *Food Reviews International* 8:71-86.
- FAO y OMS. 2006. Probióticos en los alimentos: propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Roma, 2006. 52 p. <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>
- Galvez-Sola, L., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Dolores Perez-Murcia, M., Perez-Espinosa, A., Angeles Bustamante, M. A. and Paredes, C. 2009. Effectiveness of Near Infrared Reflectance Spectroscopy in the Quick Evaluation of Nitrogen Content in Sewage Sludge. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40:726-735.
- Gonzalez, R., Carrara, C., Tosl, E., Anon, M. C. and Pilosof, A. 2007a. Amaranth starch-rich fraction properties modified by extrusion and fluidized bed heating. *Lwt-Food Science and Technology* 40:136-143.
- Gonzalez, R., Tosi, E., Re, E., Anon, M. C., Pilosof, A. M. R. and Martinez, K. 2007b. Amaranth starch-rich fraction properties modified by high-temperature heating. *Food Chemistry* 103:927-934.
- Grubben, G. J. H. 1975. The cultivation of amaranth a tropical leaf vegetable with special reference to south dhomey. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen* 75:1-223.
- Han, Z., Zeng, X. A., Zhang, B. S. and Yu, S. J. 2009. Effects of pulsed electric fields (PEF) treatment on the properties of corn starch. *Journal of Food Engineering* 93:318-323.
- Hernandez Carranza, P. 2004. Evaluacion de las propiedades fisicoquimicas y reologicas de yogurt bajo en grasa enriquecido con fibra y calcio . Tesis de Maestria. Ciencia de los alimentos. Departamento de Ingenieria Quimica y Alimentos , Escuela de Ingenieria, Universidad de las America Puebla.
- Huang, Z. Q., Lu, J. P., Li, X. H. and Tong, Z. F. 2007. Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch. *Carbohydrate Polymers* 68:128-135.
- Jung, S., Rickert, D. A., Deak, N. A., Aldin, E. D., Recknor, J., Johnson, L. A. and Murphy, P. A. 2003. Comparison of Kjeldahl and Dumas methods for determining protein contents of soybean products. *Journal of the American Oil Chemists Society* 80:1169-1173.

- Kiani, H., Mousavi, M. E., Razavi, H. and Morris, E. R. 2010. Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. *Food Hydrocolloids* 24:744-754.
- Kiatponglar, W., Tongta, S., Rolland-Sabate, A. and Buleon, A. 2015. Crystallization and chain reorganization of debranched rice starches in relation to resistant starch formation. *Carbohydrate Polymers* 122:108-114.
- Koksel, H., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Ozturk, S. and Basman, A. 2008. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. *Journal of Cereal Science* 47:275-282.
- Kong, X. L., Bao, J. S. and Corke, H. 2009. Physical properties of Amaranthus starch. *Food Chemistry* 113:371-376.
- Kong, X. L., Kasapis, S., Bao, J. S. and Corke, H. 2012. Influence of acid hydrolysis on thermal and rheological properties of amaranth starches varying in amylose content. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92:1800-1807.
- Kyburz, A. and Mueller, A. 2016. The Gastrointestinal Tract Microbiota and Allergic Diseases. *Digestive Diseases* 34:230-243.
- Lawal, O. S. Aand Adebowale, K. O. 2005. Características físico-químicas y propiedades térmicas de jack bean modificado químicamente (*Canavalia ensiformis*) almidón. *Carbohydrate Polymers* 60:331-341.
- Lewandowicz, G. and Soral-Smietana, M. 2004. Starch modification by iterated syneresis. *Carbohydrate Polymers* 56:403-413.
- Li, J.-M. and Nie, S.-P. 2016. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids* 53:46-61.
- Lilly, D. M. and Stillwell, R. H. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147:747-748.
- LIM, S. T., HAN, J. A., LIM, H. S. & BEMILLER, J. N. 2002. Modification of starch by dry heating with ionic gums. *Cereal Chemistry* 79:601-606.
- Lorenz, K. 1981. *Amarantus hypochondriacus* - characteristics of the starch and baking potential of the flour. *Starke* 33:149-153.
- Loubes, M. A., Resio, A. N. C., Tolaba, M. P. and Suarez, C. 2012. Mechanical and thermal characteristics of amaranth starch isolated by acid wet-milling procedure. *Lwt-Food Science and Technology* 46:519-524.
- Maache-Rezzoug, Z., Maugard, T., Zarguili, I., Bezzine, E., El marzouki, M. N. and Loisel, C. 2009. Effect of instantaneous controlled pressure drop (DIC) on physicochemical properties of wheat, waxy and standard maize starches. *Journal of Cereal Science* 49:346-353.
- Mapes-Sánchez, E. C. and Espitia-Rangel, E. 2010. Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Amaranthus* cultivadas y de sus posibles parientes silvestres en México. 1 ed.: CONABIO.

- Monroy D., M. C., T. Castro B., F. J. Farnández P. y L. Mayorga R. 2009. Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *Contactos*, 73:63-72. <http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n73ne/bacterio.pdf>
- Nemtanu, M. R. 2006. *Functional Properties of Corn Starch Treated with Corona Electrical Discharges*. *Macromolecular Symposia*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
- Nussinovitch, A. and Hirashima, M. 2014. *Cooking Innovations: Using Hydrocolloids for Thickening, Gelling, and Emulsification*. *Cooking Innovations: Using Hydrocolloids for Thickening, Gelling, and Emulsification*, 1-305.
- O'Callaghan, A. and Van Sinderen, D. 2016. Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 7.
- OCDE-FAO. 2014. *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2014*, OCDE Publishing, [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2014-es](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2014-es)
- OECD-FAO. 2016. *OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025*, OECD Publishing Paris. [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2016-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en)
- OKUNO, K. and SAKAGUCHI, S. 1981. Glutinous and nonglutinous starches in perisperm of grain amaranth. *Cereal Research Communications* 9:305-310.
- OMS-FAO. 1999. *Norma General del Codex para el uso de términos lecheros*. FAO y OMS, 1999. <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/codex-alimentarius/es/>
- OMS-FAO. 2011. *Codex Alimentarius Leche y productos lácteos*. FAO y OMS. Roma, 2011. 267 p. [ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Milk/Milk\\_2011\\_ES.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Milk/Milk_2011_ES.pdf)
- Paredeslopez, O., Carabestrepo, A., Perezherrera, S. and Gonzalezcastaneda, J. 1988. Influence of germination on physicochemical properties of amaranth flour and starch microscopic structure. *Starch-Starke* 40:290-294.
- Peña, A. S. 2007. Intestinal flora, probiotics, prebiotics, synbiotics and novel foods. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 99:653-658.
- Pokusaeva, K., Fitzgerald, G. F. and Van Sinderen, D. 2011. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes and Nutrition* 6:285-306.
- Pukkahuta, C., Shobsngob, S. and Varavinit, S. 2007. Effect of osmotic pressure on starch: New method of physical modification of starch. *Starch-Starke* 59:78-90.
- Rastall, R. A., Gibson, G. R., Gill, H. S., Guarner, F., Klaenhammer, T. R., Pot, B., Reid, G., Rowland, I. R. and Sanders, M. E. 2005. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *Fems Microbiology Ecology* 52:145-152.

- Rodriguez, A. P. G., Martinez, M. G., Barrera-Cortes, J., Ibarra, J. E. and Bustos, F. M. 2015. Bio-insecticide *Bacillus thuringiensis* spores encapsulated with amaranth derivatized starches: studies on the propagation "in vitro". *Bioprocess and Biosystems Engineering* 38:329-339.
- Sauer, J. D. 1950. The grain amaranths: a survey of their history and classification. *Ann Missouri Bot Gard* 37:561-632.
- Sauer, J. D. 1972. The dioecious amaranths-d a new species name and major range extensions. *Madrono* 21:426-434.
- Saunders, R. M., Betschart, A. A. and Irving, D. W. 1987. The nutritional quality of milled subfractions of amaranth grain. *Cereal Foods World* 32:657-657.
- Silva, M. M. and Lidon, F. C. 2016. Food preservatives - An overview on applications and side effects. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 28:366-373.
- Singh, H. 1961. Grain amaranths, buckwheat and chenopods. *Indian Counc Agric Res Cereal Crop Ser* 10:1-42.
- Singh, N., Kaur, S., Kaur, A., Isono, N., Ichihashi, Y., Noda, T. and Rana, J. C. 2014. Structural, thermal, and rheological properties of *Amaranthus hypochondriacus* and *Amaranthus caudatus* starches. *Starch-Starke* 66: 457-467.
- Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. 1988. Composition of the seeds of some amaranthus species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 42:325-331.
- Steeneken, P. A. M. and Woortman, A. J. J. 2009. Superheated starch: A novel approach towards spreadable particle gels. *Food Hydrocolloids* 23:394-405.
- Sudhakar, V., Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. 1992. Starch-gum interactions - formulations and functionality using amaranth corn starch and cmc. *Starch-Starke* 44:369-374.
- Syngai, G. G., Gopi, R., Bharali, R., Dey, S., Lakshmanan, G. M. A. and Ahmed, G. 2016. Probiotics - the versatile functional food ingredients. *Journal of Food Science and Technology-Mysore* 53:921-933.
- Szymonska, J., Krok, F., Komorowska-Czepirska, E. and Rebilas, K. 2003. Modification of granular potato starch by multiple deep-freezing and thawing. *Carbohydrate Polymers* 52:1-10.
- Ventura, M., O'connell-Motherway, M., Leahy, S., Moreno-Munoz, J. A., Fitzgerald, G. F. and Van Sinderen, D. 2007. From bacterial genome to functionality; case bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology* 120:2-12.
- Wang, Y. J. and Wang, L. F. 2002. Characterization of acetylated waxy maize starches prepared under catalysis by different alkali and alkaline-earth hydroxides. *Starch-Starke* 54:25-30.
- Winterton, D. and Meiklejohn, P. G. 1978. Modified starch stabilizer for low-cost production of fruit yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology* 33:55-56.

Zarguili, I., Maache-Rezzoug, Z., Loisel, C. and Doublier, J. L. 2006. Influence of DIC hydrothermal process conditions on the gelatinization properties of standard maize starch. *Journal of Food Engineering* 77:454-461.

## 11. ANEXOS

**Cuadro 13.** Análisis estadístico de la acidez de diferentes tratamientos en día 1, 15 y 30, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes.

Tratamiento	N°	Día 1	Día 15	Día 30
A61	1	0.975 d	1.035 b	1.210 c
A62	2	1.150 a,b	1.180 a,b	1.260 a,b, c
A63	3	1.142 a,b	1.215 a	1.255 a,b, c
A71	4	1.162 a	1.225 a	1.250 a,b,c
A72	5	1.075 a,b,c,d	1.135 a, b	1.265 a,b,c
A73	6	1.070 a,b,c,d	1.145 a,b	1.275 a,b
A81	7	1.070 a,b,c,d	1.135 a,b	1.265 a,b,c
A82	8	1.085 a,b,c	1.140 a,b	1.300 a
A83	9	1.065 a,b,c,d	1.100 a,b	1.295 a
C1	10	1.060 b,c,d	1.125 a,b	1.305 a
C2	11	1.010 d,c	1.085 a,b	1.215 b,c
C3	12	0.995 d,c	1.115 a,b	1.205 c
B	13	0.985 d,c	1.100 a,b	1.210 c
Media		.0006	0.0020	0.0246
Significancia		<0.0001	>0.0472	> 0.0001
C.V. %		2.41	3.96	1.25
R <sup>2</sup>		0.91	0.70	0.90

**Cuadro 14.** Análisis estadístico de la viscosidad de diferente tratamiento de leche fermentada a diferentes velocidades aguja 5, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes.

Tratamiento	N°	Vel 20	Vel 50	Vel 100
A61	1	1000 g	653 f,g	533 f
A62	2	1253 b,c	906 b	800 b
A63	3	1100 e,f	813 c,d	680 c,d
A71	4	1566 a	1093 a	873 a
A72	5	1200 c,d	853 b,c	706 c
A73	6	1300 b	826 c	693 c
A81	7	1000 b	680 e,f	593 e,f
A82	8	1000 g	746 d,e	626 d,e
A83	9	800 h	586 g	460 g
C1	10	1133 f,g	800 c,d	680 c,d
C2	11	1133 d,e	866 b,c	740 b,c
C3	12	1600 a	1146 a	906 a
B	13	1200 c,d	800 c,d	700 c
Media		1174	828.71	691.79
Significancia		<.0001	<.0001	<.0001
C.V. %		2.72	3.091	3.03
R <sup>2</sup>		0.98	0.98	0.97

**Cuadro 15.** Análisis estadístico de la viscosidad de diferente tratamiento de leche fermentada a diferentes velocidades aguja 6, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes.

Tratamiento	N°	Vel. 20	Vel. 50	Vel. 100
A61	1	750 e,f		533 g,h,i
A62	2	1166 c		733 c,d
A63	3	833 d		566 f,g,h
A71	4	1500 a,b		900 a,b
A72	5	1083 d		633 g
A73	6	1000 c,d,e		600 e,f,g,h
A81	7	750 f		500 h,i
A82	8	1000 c,d,e		700 c,d,e
A83	9	500 f		433 f, g, h
C1	10	1000 c,d,e		633 d,e,f,g
C2	11	1250 b,c		800 b,c
C3	12	1666 a		1000 a
B	13	1000 c,d,e		666 d,e,f
Media		1038		669.23
Significancia		<.0001		<.0001
C.V. %		10.19		6.33
R <sup>2</sup>		0.92		0.95



**Cuadro 16.** Análisis estadístico de sinéresis de diferentes tratamientos de leches fermentadas día 1, 15 y 30, C.V. Coeficiente de variación, medias con diferentes letras son significativamente diferentes.

Tratamiento	N°	Día 1	Día 15	Día 30
A61	1	32.76 a,b,c,d,e	38.92 d,e	49.10 c
A62	2	33.47 a,b,c,d,e	36.46 e,f	41.41 e
A63	3	25.67 c,d,e	31.90 h,i	47.29 e
A71	4	23.64 d,e	30.63 i	47.29 c,d
A72	5	24.97 c,d,e	30.60 i,j	39.23 e
A73	6	20.63 e	27.94 j,k	38.92 e
A81	7	20.51 e	26.36 k	40.66 e
A82	8	27.20 b,c,d,e	33.53 g,h	41.49 e
A83	9	27.46 b,c,d,e	35.10 f,g	45.14 d
C1	10	36.67 a,b,c,d	40.76 d	46.00 d
C2	11	37.29 a,b,c	47.21 c	52.91 b
C3	12	39.37 a,b	50.44 b	54.92 b
B	13	40.98 a	55.33 a	59.61 a
Media		30.05	37.28	46.03
Significancia		>0.0002	<.0001	<.0001
C.V. %		11.12	1.84	1.57
R <sup>2</sup>		0.89	0.99	0.99