



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

**POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA
SUSTENTABLE**

**INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA EN SUBPRODUCTO
LÁCTEO, BEBIDA PROBIOTICA DE LACTOSUERO**

Miriam Elizabeth Valencia Trujillo

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

Amatlán de los Reyes, Veracruz

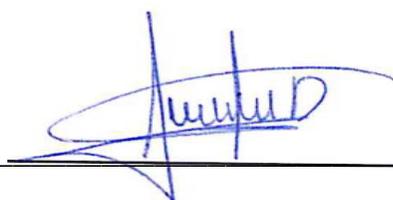
2016

La presente tesis, titulada: **Innovación agroalimentaria en subproducto lácteo, bebida probiotica de lactosuero**, realizada por la alumna: Miriam Elizabeth Valencia Trujillo, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:



DR. DORA ANGÉLICA ÁVALOS DE LA CRUZ

ASESOR:



DR. HIPOLITO ORTIZ LAUREL

ASESOR:



DR. ROGELIO CARRILLO GONZÁLEZ

Amatlán de los Reyes, Veracruz. Junio de 2016.

RESUMEN

INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA EN SUBPRODUCTO LÁCTEO, BEBIDA PROBIÓTICA DE LACTOSUERO

Miriam Elizabeth Valencia Trujillo, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

El suero de leche líquido por su composición y propiedades benéficas al ser humano, ha sido utilizado para la elaboración de diversos productos. El objetivo de este estudio fue desarrollar y evaluar seis bebidas fermentadas con base en lactosuero, jugo de carambola (*Averrhoa carambola* L.) y maracuyá (*Passiflora edulis Sims* f. *Flavicarpa* Degener), edulcoradas con estevia (*Stevia rebaudiana* B.), como una alternativa de aprovechamiento de este subproducto a los productores artesanales de queso jarocho de la región centro de Veracruz. Se utilizó el procedimiento MIXED de SAS® con una estructura de correlación de simetría compuesta, los grados de libertad para las pruebas F y comparación de medias fueron ajustados utilizando el ajuste de Kenward - Roger. Las características físicas y químicas promedio de las bebidas de carambola y maracuyá durante los 21 días de almacenamiento fueron: pH 4.81 y 3.60, acidez de 0.22% y 1.02%, °Brix 8.86 y 11.02%, humedad 90.07% y 88.60%, lactosa 4.70% y 4.70%, ceniza 0.33% y 0.38%, valores de color de L* 48.40; C*7.47; °H 110.09 y L*39.43; C* 14.97 y °H 101.43, mientras que la capacidad antioxidante por DPPH fue de 3483.67 y 2612.07 µM Trolox/g, ABTS 3988.63 y 3931.67 µM Trolox/g, contenido de fenoles 38.14 y 35.29 mg ácido gálico/L, respectivamente. Los análisis microbiológicos confirmaron la ausencia de bacterias patógenas (Coliformes totales, *Salmonella* sp y *Staphylococcus aureus*); la viabilidad de las bacterias probióticas fue de 1.16×10^7 a 2.87×10^8 UFC/mL. Las bebidas fueron evaluadas por 144 panelistas no entrenados mediante una prueba de ordenamiento de preferencia, se observaron diferencias en la preferencia de bebidas endulzadas con azúcar y con estevia. Estas bebidas probióticas nutritivas son una opción potencial de agregación para valor al lactosuero.

Palabras clave: bebida fermentada, *S. rebaudiana*, *P. edulis*, *A. carambola*.

ABSTRACT

BY-PRODUCT INNOVATION IN DAIRY FOOD, DRINK PROBIOTIC WHEY

Miriam Elizabeth Valencia Trujillo, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

The liquid whey used to manufacture a variety of products due to their composition and properties beneficial in humans. The aim of this study was to develop and to evaluate six fermented whey-based beverage with tropical fruit juice of star (*Averrhoa carambola* L.) and passion fruits (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener), sweetened with stevia (*Stevia rebaudiana* B.). This may be an alternative use for by product from artisanal makers jarocho cheese in the center región of Veracruz. The MIXED procedure of SAS® was used with a correlation structure of compound Symmetry, the F degrees and comparison of means were adjusted by Kenward-Roger procedure. The physical and chemical characteristics average of the beverages of carambola and maracuya during 21 days of storage were: pH 4.81 and 3.60, acidity 0.22 and 1.02%, °Brix 8.86 and 11.02, moisture 90.07% and 88.60%, lactose 4.70% and 4.70%, ash 0.33% and 0.38 %, values of color L* 48.40; C*7.47; °H 110.09 and L*39.43; C* 14.97 and °H 101.43, while as the antioxidant capacity by DPPH was 3483.67 and 2612.07 µM Trolox/g, ABTS 3988.63 and 3931.67 µM Trolox/g, phenolic compounds 38.14 and 35.29 mg ácido gálico/L, respective. Microbiological analysis confirmed the absence of pathogenic bacteria (total coliforms, *Salmonella sp* and *Staphylococcus aureus*); the viability of probiotic bacteria was 8.40×10^7 CFU/ mL. The beverages were evaluated by 144 untrained panelists using a preference test, the analysis of variance showed significant differences in the preference of those beverages sweetened with sugar and stevia. These healthy probiotic beverages are a potential option of added value to whey.

Keywords: fermented beverage, *S. rebaudiana*, *P. edulis*, *A. carambola*.

DEDICATORIA

A Dios Padre por permitirme culminar este sueño que hoy se hace realidad y me llena de felicidad.

A Enrique Valencia y Zenaida Trujillo, por ser unos excelentes padres que creen en mí y siempre han apoyado mis ideales. Hoy veo mi meta alcanzada gracias a sus palabras de aliento en los momentos difíciles, que me enseñan a no darme por vencida. Son un ejemplo a seguir.

A mis hermanos Oscar, Jesús y Maribel, a mi sobrina Renata, por llenar mi vida de alegría y amor cuando más lo he necesitado.

A mi hija, mi anhelo por salir adelante, progresar y culminar con éxito esta tesis. Agradezco a Dios por darme tan hermosa compañía en esta vida.

A mi novio Juan Trinidad, quien ha estado a mi lado en las buenas y en las malas; por su paciencia y amor, por darme ánimo para continuar con mis metas.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindar su apoyo a través de la beca otorgada para el estudio de Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable.

Al Colegio de Postgraduados Campus Córdoba por darme la oportunidad de seguir mi formación profesional. A la LPI12 Agregación de valor, LGAC2 Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social, a la Subdirección de Vinculación, por el apoyo brindado al desarrollo de este trabajo de investigación.

A la Dra. Dora Angélica Avalos de la Cruz, por su dirección y dedicación a este proyecto de investigación.

Al Dr. Hipólito Ortiz Laurel y Dr. Rogelio Carrillo González por su asesoría que enriquecieron este proyecto.

A los catedráticos que guiaron mi formación académica y me aportaron conocimiento y valores para ser una maestra en ciencias.

A los productores de queso fresco de la comunidad de Paso Carretas, Tlalixcoyan, Veracruz, por las facilidades otorgadas y por compartir su información y experiencia.

Al Dr. Esteban Escamilla y al MC. Nanco, profesores del CRUO Chapingo y a la MC. Natalia Acosta, responsable de la empresa DYCTROSA, por facilitarme frutos de maracuyá en todo momento.

A la Q.F.B. Laura Bautista por su apoyo en todo momento. A los responsables de laboratorio Paulina, Flor, Natali y Michi, por su supervisión y guía en equipos y material.

Al Dr. Andrés Herrera por su asesoría en análisis sensorial y al Dr. Josafhat Salinas por su apoyo en el análisis estadístico.

A mis compañeros que amenizaron mis largas horas de trabajo: Rosa Campos Pulido, Carmen Salas, Sonia López, Eutiquio, José Peña, Nadia Ortega, Chely Valdivia, Susan, Gloria Vázquez, Jorge “Borrego” y aquellos que me motivaron a continuar en este camino.

CONTENIDO

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Leche y queso.....	3
2.1.1 Producción mundial y nacional de leche.....	3
2.1.2 Definición y composición del queso.....	4
2.1.3 Mercado del queso.....	6
2.1.4 Proceso de elaboración de queso fresco.....	7
2.2 Lactosuero.....	8
2.2.1 Composición del lactosuero.....	9
2.2.2 Las proteínas del lactosuero.....	10
2.2.3 Usos y aplicaciones del lactosuero.....	12
2.2.3.1 Bebidas fermentadas.....	12
2.2.3.2 Concentrados de proteína.....	13
2.2.3.3. Bioetanol.....	13
2.2.3.4 Ácidos orgánicos.....	14
2.2.3.5 Productos de panadería y confitería.....	14
2.2.3.6 Películas biodegradables y recubrimientos comestibles.....	15
2.2.4 Exportación de lactosuero.....	15
2.3 Probiótico.....	15
2.4 Carambola (<i>Averrhoa carambola</i> L.).....	16
2.4.1 Origen.....	16
2.4.2 Composición química.....	17
2.4.3 Usos de la carambola.....	18
2.4.4 Producción de carambola.....	18
2.5 Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>Flavicarpa</i> Degener).....	18
2.5.1 Origen.....	18
2.5.2 Descripción del cultivo.....	19
2.5.3 Usos de maracuyá.....	19
2.5.4 Producción de maracuyá.....	20
2.6 <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	20
2.6.1 Origen.....	20
2.6.2 Descripción botánica.....	21
2.6.3 Características de los glicósidos de <i>S. rebaudiana</i>	21
2.6.4 Beneficios de la estevia.....	23
2.7 Aditivos alimentarios.....	23
2.7.1 Sacarosa.....	23
2.7.2 Goma guar.....	24
2.8 Análisis sensorial en los alimentos.....	24

2.9 Capacidad antioxidante.....	24
2.9.1 DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazil)	25
2.9.2 ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio)	26
2.9.3 Compuestos fenólicos	27
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
IV.OBJETIVO GENERAL.....	29
V. HIPÓTESIS	29
VI.MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
6.1 Materia prima	30
6.1.1 Lactosuero	30
6.1.2 Carambola y maracuyá	30
6.1.2.1 Proceso de obtención del jugo de carambola y maracuyá.....	31
6.1.3 Estevia rebaudiana	31
6.1.3.1 Obtención del extracto de estevia	31
6.2 Análisis físicos, químicos y microbiológicos	32
6.2.1 Peso, diámetro y longitud.....	33
6.2.2 Rendimiento en jugo	33
6.2.3 Firmeza	33
6.2.4 Color	33
6.2.5 Humedad	34
6.2.6 pH	34
6.2.7 Acidez titulable	34
6.2.8 Densidad.....	34
6.2.9 Sólidos solubles totales (°Brix)	35
6.2.10 Grasa	35
6.2.11 Proteína	35
6.2.12 Lactosa	35
6.2.13 Ceniza.....	36
6.2.14 Vitamina C	36
6.2.15 Bacterias mesófilas aerobias	37
6.2.16 Bacterias coliformes totales	37
6.2.17 <i>Salmonella</i> spp	37
6.2.18 <i>Staphylococcus aureus</i>	38
6.3 Formulación de las bebidas	38
6.3.1 Proceso de elaboración de bebidas de lactosuero	39
6.4 Conteo de probiótico (MRS).....	41
6.5 Diseño experimental para evaluar las bebidas.....	42
6.6 Capacidad antioxidante.....	43
6.6.1 Preparación de extractos acuosos	43
6.6.2 Método DPPH	43
6.6.3 Método ABTS.....	44
6.6.4 Compuestos fenólicos	45
6.7 Evaluación de la aceptabilidad.....	45
6.7.1 Diseño experimental del análisis sensorial.....	46

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
7.1 Características físicas y químicas del lactosuero, jugo de carambola y maracuyá y extracto de estevia	47
7.2 Características y comportamiento de parámetros de las bebidas probióticas de lactosuero, carambola y maracuyá durante el almacenamiento	51
7.2.1 Color	51
7.2.1.1 Luminosidad.....	51
7.2.1.2 Croma	53
7.2.1.3 Hue o matiz.....	55
7.2.2 Humedad	57
7.2.3 pH	59
7.2.4 Acidez	61
7.2.5 Sólidos solubles (°Brix)	63
7.2.6 Lactosa	65
7.2.7 Cenizas.....	68
7.2.8 Calidad microbiológica de las bebidas de lactosuero	70
7.3 Capacidad antioxidante en materias primas y bebidas probióticas	72
7.3.1 DPPH.....	73
7.3.2 ABTS	75
7.3.3 Compuestos fenólicos	77
7.4 Aceptabilidad de las bebidas de lactosuero	79
VIII.CONCLUSIONES.....	81
IX. RECOMENDACIONES.....	81
X. LITERATURA CITADA	82
XI. ANEXOS	96

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de los quesos de acuerdo a su proceso de elaboración.	6
Cuadro 2. Producción de lactosuero de acuerdo al rendimiento de queso y tipo de leche procesada.....	8
Cuadro 3. Composición del lactosuero y de la leche de bovino.	9
Cuadro 4. Aminoácidos esenciales (g/100g de proteína) del lactosuero.	11
Cuadro 5. Clasificación de la carambola por calibres.....	17
Cuadro 6. Composición de la carambola en base a 100 g de la parte comestible.....	17
Cuadro 7. Técnicas de análisis físicos y químicos para el lactosuero, fruto, jugo y extracto de estevia.	32
Cuadro 8. Análisis microbiológicos realizados al suero fresco.	33
Cuadro 9. Composición de las bebidas de lactosuero.....	39
Cuadro 10. Técnicas de análisis físicos y químicos para bebidas de lactosuero.....	41
Cuadro 11. Análisis microbiológicos realizados a las bebidas de lactosuero.	41
Cuadro 12. Métodos para determinar la capacidad antioxidante en suero, jugo, extracto de estevia y bebidas de lactosuero.	43
Cuadro 13. Características físicas, químicas y microbiológicas del suero fresco, especificaciones de la norma mexicana y otros autores.	48
Cuadro 14. Parámetros físicos y químicos de los frutos frescos	49
Cuadro 15. Características físicas y químicas del jugo de carambola y maracuyá.....	50
Cuadro 16. Valores de pH, acidez, humedad y cenizas en el extracto de estevia.	50
Cuadro 17. Efecto de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre la luminosidad durante 21 días de almacenamiento.	52
Cuadro 18. Efecto de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre el croma durante 21 días de almacenamiento.	54
Cuadro 19. Efecto de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre el matiz durante 21 días de almacenamiento.....	56
Cuadro 20. Contenido de humedad (%) de las bebidas de lactosuero en función del jugo, edulcorante y periodo de almacenamiento.	58
Cuadro 21. Efecto de los componentes de la bebida de lactosuero y el tiempo de almacenamiento sobre el pH.....	60
Cuadro 22. Efecto de los componentes de la bebida de lactosuero y el tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de acidez.	63
Cuadro 23. Influencia de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre los sólidos solubles (%) en función del tiempo de almacenamiento.	65
Cuadro 24. Influencia de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre la concentración de lactosa (%) durante 21 días de almacenamiento.....	67
Cuadro 25. Contenido de cenizas (%) de las bebidas de lactosuero en función de los componentes y el tiempo de almacenamiento.	70

Cuadro 26. Presencia de microorganismos patógenos en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, y referencia de las normas Mexicana y Ecuatoriana.....	70
Cuadro 27. Conteo de <i>Lactobacillus casei</i> en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia durante 21 días de almacenamiento.	71
Cuadro 28. Actividad antioxidante en suero fresco, jugo de carambola y maracuyá, y el extracto de estevia.	72
Cuadro 29. Capacidad antioxidante del radical DPPH ($\mu\text{M ET/g}$ muestra) de bebidas de lactosuero en función de los componentes y tiempo de almacenamiento.	75
Cuadro 30. Capacidad antioxidante del radical ABTS ($\mu\text{M ET/g}$ muestra) de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, en función del periodo de almacenamiento.	76
Cuadro 31. Fenoles totales (mg AG/L) en las bebidas de lactosuero en función de sus componentes y tiempo de almacenamiento.....	78
Cuadro 32. Aceptación e intención de compra de las bebidas de lactosuero con jugo de carambola y maracuyá.	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales Estados productores de leche 2009-2014 (SIAP-SAGARPA, 2014).	4
Figura 2. Corte transversal de <i>Averrhoa carambola</i> L.	16
Figura 3. Corte transversal del fruto de <i>Passiflora edulis</i> Sims f. Flavicarpa Degener.	19
Figura 4. Estructura química de los principales glucósidos de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni (Kroyer, 2010).	22
Figura 5. Estructura del radical 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil (Boudier <i>et al.</i> , 2012)	26
Figura 6. Formación de radical catión ABTS (Sekher <i>et al.</i> , 2001).	27
Figura 7. Diagrama del proceso de obtención del jugo de carambola y maracuyá.	31
Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de bebidas de lactosuero con jugo de carambola y maracuyá endulzadas con estevia.	40
Figura 9. Luminosidad de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en relación al edulcorante	51
Figura 10. Luminosidad en las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia, durante el periodo de almacenamiento.	52
Figura 11. Croma de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá y carambola en relación al edulcorante.	53
Figura 12. Cambios en el croma de bebidas de lactosuero, jugo de maracuyá o carambola y estevia, durante 21 días de almacenamiento.	54
Figura 13. Variación del matiz de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.	55
Figura 14. Variación del matiz en las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola endulzado con estevia durante el periodo de almacenamiento.	56
Figura 15. Contenido de humedad en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.	57
Figura 16. Contenido de Humedad de las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia, durante el periodo de almacenamiento.	58
Figura 17. Variación del pH de las bebidas de lactosuero con jugo de carambola y maracuyá en relación al tipo de edulcorante.	59
Figura 18. Comportamiento del pH en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia durante 21 días de almacenamiento. ...	60
Figura 19. Acidez de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.	62
Figura 20. Variación de la acidez en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y extracto de estevia, durante el almacenamiento.	62
Figura 21. Efecto del edulcorante en la concentración de sólidos solubles en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá y carambola.	64

Figura 22. Variación de los sólidos solubles (°Brix) en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia durante 21 días de almacenamiento.	64
Figura 23. Contenido de lactosa en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, en función del tipo de edulcorante.....	66
Figura 24. Contenido de lactosa en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia durante el tiempo de almacenamiento.	67
Figura 25. Contenido de cenizas (%) de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola de acuerdo al tipo de edulcorante.	68
Figura 26. Contenido de cenizas en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia, de acuerdo al periodo de almacenamiento.....	69
Figura 27. <i>Lactobacillus casei</i> en tinción lugol (100x).	71
Figura 28. Capacidad antioxidante del radical DPPH de las bebidas de lactosuero en función del jugo de maracuyá o carambola y del edulcorante.	73
Figura 29. Capacidad antioxidante DPPH de las bebidas de lactosuero con jugo de carambola o maracuyá y estevia, en función tiempo de almacenamiento.	74
Figura 30. Capacidad antioxidante del radical ABTS de bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia.	75
Figura 31. Capacidad antioxidante del radical ABTS en las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola y estevia durante 21 días de almacenamiento.....	76
Figura 32. Contenido de fenoles totales en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.	77
Figura 33. Contenido de fenoles totales en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, durante 21 días de almacenamiento. ..	78
Figura 34. Apreciación de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola, endulzadas con estevia de acuerdo a una escala hedónica.	79

I. INTRODUCCIÓN

Las investigaciones buscan desarrollar nuevas tecnologías para dar valor agregado a los residuos agroindustriales; entre éstos destaca el suero de leche, subproducto del proceso de elaboración de queso. La producción de lactosuero a nivel mundial es de 160 millones de toneladas por año (estimado como 9 veces más que la producción de queso), con una tasa de crecimiento anual de 1-2 % (Guimarães *et al.*, 2010).

En México la producción de leche alcanzó los 11 mil 129 millones de litros, mientras que la producción de queso total a nivel nacional fue de 342,870 toneladas; de esta cantidad 60,913 toneladas fueron de queso fresco (SIAP-SAGARPA, 2014). Lo anterior muestra el volumen generado de lactosuero al considerar que por cada kilogramo de queso se obtiene aproximadamente 9 litros de este residuo (Conti *et al.*, 2012), el cual puede ser aprovechado por su calidad nutritiva para la obtención de diversos productos, ya que retiene más de la mitad de los sólidos (Siso, 1996).

Al lactosuero se le atribuyen propiedades benéficas a la salud, como depurativo, desintoxicante, regenerador de la flora intestinal y potenciador del sistema inmune, entre otras. Se considera que al utilizarlo fresco aporta al organismo nutrientes básicos para el equilibrio metabólico, mejora el flujo libre de la bilis, la evacuación de las deposiciones y el vaciamiento de la vejiga (Ramírez-Navas, 2013). Debido a sus propiedades tanto nutricionales como funcionales, 50% del total de la producción mundial de suero es tratada y transformada en diversos productos alimenticios: 45% se utiliza directamente en forma líquida, 30% en polvo, 15% en lactosa y subproductos de su extracción, 5% como concentrados de proteína (Panesar *et al.*, 2007). El resto del suero es descargado al drenaje que llega a ríos, al suelo, o es usado como alimento para animales domésticos. Esta descarga causa problemas de contaminación, en los suelos disminuye el rendimiento de las cosechas, además se observa el fenómeno de lixiviación ya que el lactosuero contiene nitrógeno (Valencia y Ramírez, 2009); mientras que en el agua, debido a su alto contenido de sustancias orgánicas, aumenta la demanda biológica de oxígeno (Spălățelu, 2012).

En la comunidad de Paso Carretas, Tlaxiaco, Veracruz, se ubican 20 queserías artesanales, las cuales generan alrededor de 15000 litros de lactosuero por día en la elaboración de queso fresco jarocho principalmente, y queso tipo Oaxaca o Cotija (queso jarocho seco) sobre pedido. Un bajo porcentaje del suero se destina a la

alimentación de ganado (bovino, ovino, porcino y equino) y el restante es vertido cerca de caminos o terrenos agrícolas.

Recientemente, el sector clave de crecimiento en la utilización de suero de leche ha sido en bebidas probióticas (Shukla *et al.*, 2013), es por eso que este trabajo de investigación propone una alternativa de uso del lactosuero al desarrollar una bebida probiótica con jugo de frutas no tradicionales y extracto de estevia como edulcorante.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Leche y queso

La leche de vaca es un alimento básico en la alimentación humana y ha formado parte de nuestra dieta los últimos 10,000 años. Por su contenido en nutrientes y su excelente relación entre la calidad nutricional y el aporte energético, es importante su consumo en todas las etapas de la vida (Fernández *et al.*, 2014).

La leche es la secreción natural de las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos para alimentar a sus crías, es un líquido blanco, opaco, de sabor ligeramente dulce. Está compuesta principalmente por agua, materia grasa, proteínas, carbohidratos (lactosa), calcio, minerales y sal (Valencia y Ramírez, 2009). Las proteínas de la leche son la caseína (2-15 g/L), lactoglobulina (2-4 g/L), lactalbúmina (0.6-1.7 g/L), albúmina sérica (0.4 g/L), inmunoglobulinas (0.01-0.6 g/L) y lactoferrina (0.02-0.1 g/L). Contiene alrededor de 15 mg de colesterol por cada 100 gramos, variando en función del tipo y origen. Posee minerales como calcio, fósforo, azufre, cloro, sodio, potasio y magnesio, y en menor cantidad hierro, flúor, cinc, yodo, molibdeno, cromo, cobalto, cobre, selenio, manganeso (Bello *et al.*, 2005).

La leche incluye varios compuestos antioxidantes, exógenos como la vitamina A, E y C, y los antioxidantes endógenos, las enzimas peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, y sustancias procedentes de las proteínas como la lactoferrina y la coenzima Q10 (Vázquez-Velázquez *et al.*, 2015).

2.1.1 Producción mundial y nacional de leche

La India es el mayor productor mundial de leche, con el 16% de la producción total, seguido por los Estados Unidos de Norteamérica, China, Pakistán y Brasil (FAO, 2013). México ocupa el tercer lugar en producción de leche en América Latina, con más de 11 mil millones de litros al año, un hato de alrededor de 2.3 millones de cabezas de ganado, en 254 mil unidades de producción pequeñas y medianas (SIAP-SAGARPA, 2014). Entre los Estados de mayor producción de leche se encuentra Veracruz en sexto lugar con 693,951 millones de litros (**Figura 1**). El municipio de Tlaxicoyan reportó una producción de 7,777 litros (SIAP-SAGARPA, 2014).

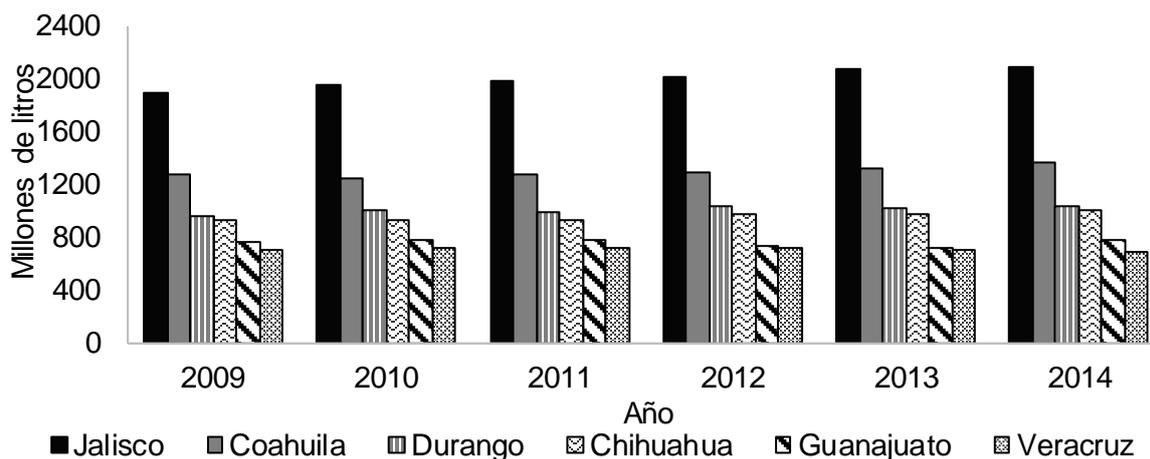


Figura 1. Principales Estados productores de leche 2009-2014 (SIAP-SAGARPA, 2014).

En algunos países, casi la mitad de la leche producida se consume fresca, entera, pasteurizada, baja en grasa o leche descremada. Sin embargo, la mayor parte de la leche se procesa en productos lácteos más estables como mantequilla, queso, leches en polvo, helados, y leche condensada (Singh, 2016). Se ha demostrado que la leche y los productos lácteos reducen el riesgo de trastornos crónicos como la osteoporosis, la hipertensión, el exceso de peso y grasa corporal y el cáncer colorrectal (Huth *et al.*, 2006).

2.1.2 Definición y composición del queso

El Codex Alimentarius define el queso como el producto blando, semiduro, duro y extraduro, madurado o no madurado, puede estar recubierto, donde la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante:

- a) Coagulación total o parcial de la leche y sus derivados, solos o combinados, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación.
- b) Técnicas de elaboración que implican la coagulación de la proteína de la leche y/o productos obtenidos de leche que dan un producto final que posee

las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en el apartado (a).

El queso es un término genérico para un grupo diverso de productos alimenticios derivados de la leche y se produce en todo el mundo en una amplia gama de sabores, texturas, formas y contenido de grasa (González-García *et al.*, 2013) que son el resultado del uso de distintas especies de bacterias y mohos, diferentes niveles de grasa en la leche, variaciones en el tiempo de curación, diversos tratamientos en su proceso, entre otros. Se estima que en el mundo hay más de 2,000 tipos de queso, así como variedades y métodos de elaboración y de conservación (Hervás, 2012).

Los quesos frescos se caracterizan por ser productos de alto contenido de humedad, sabor suave y no tener corteza, pudiendo o no adicionarle ingredientes opcionales y tener un periodo de vida de anaquel corto, requiriendo necesariamente condiciones de refrigeración. De acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010 por su proceso se clasifican en quesos frescos, maduros y procesados (**Cuadro 1**).

De acuerdo a González-Villareal (2002), los factores interdependientes que participan en el resultado y la caracterización del queso son:

- a) La composición de la leche.
- b) Factores microbianos (composición de la flora microbiana presente en la leche cruda o la añadida).
- c) Factores bioquímicos (concentración y propiedades de las enzimas presentes).
- d) Factores físicos y químicos: temperatura, pH y presión atmosférica.
- e) Factores químicos: proporción de calcio en la cuajada, agua, sales minerales, otros.
- f) Factores mecánicos como el corte, remoción y presión mecánica.

Cuadro 1. Clasificación de los quesos de acuerdo a su proceso de elaboración.

Frescos	
a) Frescales	Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.
b) De pasta cocida	Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Del Morral, Adobera.
c) Acidificados	Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel.
d) Quesos de suero	Broccio, Broccotle, Cerrase, Geitmysost, Gyetost, Mejetle, Mysost, Recuit, Requesón, Ricotta, Picotón, Schottenezinger, Zinder.
Madurados	
a) Prensados de pasta dura	Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito
b) Prensados	Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental.
c) Con mohos	Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie.
Procesados	
a) Fundidos	
b) Fundidos para untar	

Fuente: NOM-243-SSA1-2010.

2.1.3 Mercado del queso

La Unión Europea domina la producción y consumo de queso, seguido de Estados Unidos de Norteamérica. Cualquiera sea el tipo de queso elaborado (parmesano, mozzarella, Gouda, danés azul, Brie, Camembert, queso Feta, Serpa, otro), las agroindustrias generan efluentes que representan un impacto ambiental significativo (Carvalho *et al.*, 2013).

El mercado del queso en México está conformado por tres grupos: el primero integrado por quesos producidos nacionalmente, los otros dos por quesos importados con diferentes características, incluye los quesos premium y los de uso industrial. El consumo de quesos se da en todos los niveles socioeconómicos, el

poder adquisitivo es determinante en la selección del tipo, marca y presentación (Hervás, 2012).

2.1.4 Proceso de elaboración de queso fresco

La elaboración de queso constituye una fuente económica para pequeños y medianos productores de leche ante la baja rentabilidad de la actividad. A pesar de esto, la quesería artesanal elabora un producto de reconocidas bondades nutricionales y gustativas que genera y mantiene el empleo rural de un gran número de agentes de la cadena agroindustrial: ganaderos, queseros y comerciantes (Villegas y Cervantes, 2011; Castro *et al.*, 2012).

Este tipo de queserías son familiares, cuentan con un espacio anexo a la vivienda destinado a la producción de derivados lácteos. Su infraestructura es básica: tanques para almacenar leche, moldes, botes de plástico y coladeras, los insumos utilizados son principalmente cuajo y sal (Cesin *et al.*, 2007).

En Veracruz se transforma de manera tradicional y artesanal la leche fresca en diferentes tipos de quesos: el queso fresco o queso jarocho, el queso de hebra o quesillo, el queso Cotija y el queso seco (Castro *et al.*, 2012). En la comunidad de Paso Carretas el 20% de las familias se dedica a la elaboración de queso jarocho, cuyo destino del producto son las comunidades aledañas. El proceso de elaboración se ha venido realizando por más de 50 años, su conocimiento se transmite de generación en generación (Salas *et al.*, 2015).

El proceso se inicia con la colecta de la leche proveniente de ganado de cruce Suizo y Cebú, siguiendo una ruta establecida por el quesero. La leche se procesa el mismo día ya que no cuentan con sistema de enfriamiento para almacenarla; enseguida se filtra con paños de tela al vaciar en el tanque de acero inoxidable; se agita y deja reposar 5 minutos. Enseguida se adiciona nitrato de potasio (KNO_3) 24 g/100 L de leche para prevenir el desarrollo de bacterias productoras de gas, y cloruro de calcio ($CaCl_2$) 92 g/100 L para dar consistencia a la cuajada, se agita 3 minutos y se adiciona cuajo comercial (17 mL/100 L), se agita y deja reposar 30 min. Después se raya y corta con liras metálicas o palas de madera y se deja en reposo 10 minutos para separar la cuajada y el lactosuero que se extrae con cubetas y una malla. Se adiciona sal (0.64 kg/100 L de leche procesada), se homogeniza manualmente por 8 min. Posteriormente se vierte la cuajada en moldes (cubetas de plástico perforadas o moldes de acero inoxidable), se prensa por 1 hora estibando

una sobre otra. Se desmolda y empaca en bolsas de plástico para conservar en refrigeración o en una cámara con agua fría (12-15 °C) (Salas *et al.*, 2015).

El rendimiento promedio es 1 kg de queso fresco jarocho/8.28 L de leche, en época de lluvias (junio-julio), en época de secas (marzo-mayo) algunos productores obtienen 1 kg/5-6 L (Salas *et al.*, 2015).

2.2 Lactosuero

Según la Norma Mexicana (NMX-F-721-COFOCALEC-2012) el suero de leche es la parte líquida que se obtiene después de la separación de la cuajada durante la elaboración del queso y/o la caseína. Su composición varía en función de la leche utilizada, el tipo de queso del cual proviene, del método de coagulación y de los procesos a los que es sometido para obtener propiedades funcionales específicas. La mayor parte del suero de leche procesado proviene de la Unión Europea y los Estados Unidos de Norteamérica (70% del suero de leche mundial) (Yadav *et al.*, 2015). La alta carga orgánica que posee el lactosuero y el volumen generado está en función de la productividad de queso y el tipo de leche procesada (**Cuadro 2**) (Carvalho *et al.*, 2013).

El suero de leche vertido a corrientes de agua es consumido por bacterias y otros microorganismos que utilizan el oxígeno del agua; la demanda biológica del lactosuero es de 40000 a 50000 mg de O₂/L, el oxígeno contenido en el agua de un río no contaminado es de 10 mg/L que al descender a 4 mg de O₂ /L provoca mortalidad de peces (Londoño *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Producción de lactosuero de acuerdo al rendimiento de queso y tipo de leche procesada.

Tipo de leche procesada	Densidad de la leche(g/cm ³)	Rendimiento (kg de queso/100 kg de leche)	Volumen de lactosuero L/ L de leche procesada
Vaca	1.032	9.86	0.873
Oveja	1.036	14.78	0.822
Cabra	1.034	9.84	0.872

Fuente: Carvalho *et al.*, 2013.

Clasificación del lactosuero de acuerdo a su origen (Panesar *et al.*, 2007; Ramírez-Navas, 2013):

- a) Lactosuero dulce, líquido sobrante de la precipitación de las proteínas por hidrólisis específica de la k-caseína por coagulación enzimática, tiene un pH de 6.5, próximo al de la leche original; no hay variación en la composición mineral.
- b) Lactosuero ácido, líquido obtenido después de la coagulación ácida o láctica de la caseína, su pH es cercano a 4.5 por la producción de ácido láctico y alto contenido de minerales.

Los dos tipos de lactosuero difieren en la acidez, contenido mineral y composición de proteína.

2.2.1 Composición del lactosuero

El lactosuero se compone del 93% de agua, 5% de lactosa, 0.85% de proteínas, 0.53% de minerales y vitaminas, 0.36% de grasa (Pescuma *et al.*, 2008). La composición promedio del lactosuero se muestra en el **Cuadro 3** (Smithers, 2008).

Cuadro 3. Composición del lactosuero y de la leche de bovino.

Componente	Suero dulce	Suero ácido ^a	Leche
Sólidos totales (%)	6.3	6.6	12.8
Proteína total (%)	0.75	0.75	3.5
Caseína	<0.05	<0.05	2.8
Proteína de suero ^b	0.7	0.7	0.7
Grasa (%)	0.1	0.1	3.7
Cenizas (%)	0.5	0.8	0.7
Lactosa (%)	4.9	4.9	4.9
pH	>5.6	<5.1 ^c	6.5-6.8
DBO ^d (mg O ₂ /L)	>30,000	>35,000	140,000
DQO ^e (mg O ₂ /L)	>60,000	~80,000	218,000
Energía (kJ/L)	~1100	~1100	~1710

Fuente: Smithers, 2008.

^a Composición del lactosuero de caseína ácida. Los sólidos totales en el suero ácido son <6% y el contenido de proteínas es <0.2%. ^b Proteína de lactosuero comprende b-lactoglobulina, a-lactoalbúmina, glicomacropéptido (en suero alquilado solamente), y componentes menores de proteínas/péptidos. ^c pH <4.5 y en lactosuero puede ser tan bajo como 3.5. ^d DBO, Demanda Biológica de Oxígeno. ^e DQO, Demanda Química de Oxígeno.

La composición del lactosuero depende de la composición de la leche, el contenido de humedad del queso, y de manera significativa del pH al que se separa de la cuajada (Acevedo, 2010).

La lactosa es el carbohidrato predominante de la leche, formada por la unión de galactosa y glucosa por un enlace glucosídico, su solubilidad es baja y su dulzor es 40% respecto a la sacarosa (Gil, 2015).

2.2.2 Las proteínas del lactosuero

Las proteínas, alrededor de 50% es b-lactoglobulina (fuente de aminoácidos esenciales de cadena ramificada), 20% de α -lactoalbúmina (proteína principal en la leche humana, de cadena ramificada y aminoácidos esenciales), 20% glicomacropéptido (en suero alquilado) y 10% de componentes menores, proteínas como inmunoglobulinas (proteína primaria que se encuentra en el calostro con beneficios inmunomoduladores), lactoferrina (antioxidante, antibacteriano, antiviral y antifúngico que promueve crecimiento de bacterias benéficas), lactoperoxidasa (Inhibe el crecimiento de bacterias), albúmina de lactosuero (proteína grande que es fuente de aminoácidos esenciales) lisozima, factores de crecimiento, entre otros (Marshall, 2004; Smithers, 2015).

Las proteínas son una rica y balanceada fuente de aminoácidos esenciales, además son de alto valor biológico por su contenido en leucina, triptófano, lisina y aminoácidos azufrados, tienen una calidad igual a las del huevo (**Cuadro 4**).

La leucina y lisina son los aminoácidos que se encuentran en mayor cantidad, además ejercen determinados efectos biológicos y fisiológicos, in vivo, potenciando la respuesta inmune, tanto humoral como celular (Parra, 2009).

Las vitaminas que posee son la tiamina 0.38 mg/mL, riboflavina 1.2 mg/mL, ácido nicotínico 0.85 mg/mL, ácido pantoténico 3.4mg/mL, piridoxina 0.42 mg/mL, cobalamina 0.03 mg/mL y ácido ascórbico 2.2 mg/mL. Presenta minerales como el potasio, calcio, fósforo, sodio y magnesio (Parra, 2009; Poveda, 2013).

Cuadro 4. Aminoácidos esenciales (g/100g de proteína) del lactosuero.

Aminoácido	Lactosuero	Huevo	Equilibrio recomendado por la FAO
Treonina	6.2	4.9	3.5
Cisteína	1.0	2.8	2.6
Metionina	2.0	3.4	2.6
Valina	6.0	6.4	4.8
Leucina	9.5	8.5	7.0
Isoleucina	5.9	5.2	4.2
Fenilalanina	3.6	5.2	7.3
Lisina	9.0	6.2	5.1
Histidina	1.8	2.6	1.7
Triptófano	1.5	1.6	1.1

Fuente: Parra, 2009.

Las propiedades funcionales del lactosuero vienen dadas por las principales proteínas: α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina. La α -lactoalbúmina está formada por una sola cadena polipeptídica de 123 aminoácidos, con peso molecular de 14,200 Dalton y tamaños de partículas entre 1 y 2 μ m; es una proteína ácida con un punto isoeléctrico de 4.3. La β -lactoglobulina está formada por una sola cadena de 162 aminoácidos, con peso molecular de 18,400 Dalton y tamaños de partículas entre 2 a 4 μ m. Estos dímeros se forman entre pH 7.5-5.2 (punto isoeléctrico de la β -lactoglobulina) (Callejas *et al.*, 2012).

Las principales actividades de las proteínas del lactosuero son su actividad anticancerosa, su papel protector frente al cáncer de colon y es estimulador de la respuesta inmune (Baro *et al.*, 2001).

2.2.3 Usos y aplicaciones del lactosuero

El lactosuero en la edad media se utilizó como una droga farmacéutica, un componente de bálsamo para las quemaduras, poción para inspirar vitalidad y para restaurar el cabello, pero rara vez era utilizada como alimento para los seres humanos (Kosikowski, 1979). Entre los beneficios que aporta a la salud del ser humano se sabe que influye sobre la actividad antitrombótica y estimula la proliferación y las funciones biológicas de las bifidobacterias que predominan en el tracto intestinal de los niños alimentados con leche materna (Miranda *et al.*, 2007).

Para satisfacer las demandas de los consumidores de alimentos saludables, han llevado a los mercados nuevos productos alimenticios funcionales, nutracéuticos, enriquecidos, entre otros, y existe la oportunidad de integrar nuevos ingredientes recuperados de subproductos como el lactosuero (Smithers, 2008). Se pueden obtener una diversidad de productos del lactosuero, como ácidos orgánicos, productos de panadería, gomas, empaques biodegradables, sustancias inhibidoras del crecimiento, proteína unicelular, exopolisacáridos, concentrados proteicos, bebidas para deportistas, alcoholes y bebidas fermentadas (Parra, 2009). El lactosuero líquido podría ser utilizado en lugar de agua sin ningún procesamiento o gasto adicional para la producción de ciertos alimentos para mejorar su calidad sensorial (Aydin y Çakmakçi, 2014).

2.2.3.1 Bebidas fermentadas

Los productos lácteos fermentados proporcionan un alimento completo de beneficio a la salud y pueden ser mejorados con la adición de proteínas de suero, lactosa y bacterias probióticas con propiedades terapéuticas (Legarová y Kouřimská, 2010). Por ello las bebidas con frutas a base de lactosuero tienen un gran potencial en el mercado, ya que son consideradas como matrices convenientes para llevar y liberar proteínas de suero en la dieta humana, además de ser nutritivas y energéticas, pueden ser útiles en comunidades donde la insuficiencia de alimentos ocasiona deficiencias nutricionales (Baccouche *et al.*, 2013).

El bajo perfil sensorial de las bebidas a base de proteína de suero es un desafío para la aceptación del consumidor, en varias investigaciones que han desarrollado bebidas a base de lactosuero y jugos de frutas con diversas formulaciones, se ha evaluado la mezcla óptima basada en la percepción sensorial (Djurić *et al.*, 2004). Una limitante es la precipitación de las proteínas desnaturalizadas térmicamente,

que puede resultar en turbidez excesiva, aumento de la viscosidad, la separación de fases y gelificación, lo que tiene un efecto negativo en la calidad de este tipo de bebidas (Ryan *et al.*, 2012).

Las bebidas producidas a un pH casi neutro (6.8) son generalmente opacas y disponibles en sabores chocolate, crema de naranja y vainilla. Las bebidas ácidas (pH <3.5) son claras y disponibles en sabores frutales de uva, limón, lima y ponche de frutas. Las proteínas del lactosuero deben permanecer dispersas y solubles para que las bebidas conserven su claridad (Beecher *et al.*, 2008).

Existen bebidas comerciales de lactosuero, tal es el caso de “Rivella” de suero y lactosa hidrolizada, concentrada, fermentada con bacterias lácticas, saborizada con una mezcla de hierbas alpinas y carbonatada, elaborada en Suiza y comercializada en Europa Occidental. También la compañía Finlandesa Valio elabora una bebida denominada “Gefilus” con lactosuero, lactosa hidrolizada y fermentada con la bacteria *Lactobacillus GG* con propiedades probióticas (García *et al.*, 1993).

En Colombia se elabora una bebida fermentada de lactosuero con pulpa de maracuyá (Sepúlveda *et al.*, 2002) y otra de suero de queso fresco fermentada con *Lactobacillus casei* (Londoño *et al.*, 2008). Aydin y Çakmakçi (2014) reportaron la utilización de lactosuero fresco en lugar de agua para la producción de kadayif (postre turco) el cual le proporcionó calidad positiva.

2.2.3.2 Concentrados de proteína

Para la obtención de las proteínas de lactosuero se emplean diversas técnicas y métodos tales como la ultrafiltración, el uso de ácidos como catalizador en la precipitación proteica y los tratamientos térmicos, este último es el más antiguo utilizado para la recuperación de las proteínas (Vázquez-Puente *et al.*, 2010).

Estos concentrados de proteína son elaborados como sustitutos de leche descremada y utilizados en la elaboración de yogur, queso procesado, varias bebidas, salsas, fideos, galletas, helados, pasteles, derivados lácteos, panadería, carnes, bebidas y formulaciones infantiles, debido a las propiedades funcionales y beneficios nutricionales (Parra, 2009).

2.2.3.3. Bioetanol

El género *Kluyveromyces* ha sido la levadura más utilizada para la fermentación de etanol a partir de suero de leche, por diferentes métodos como la micro-aireación en

las fermentaciones por lotes, fermentaciones continuas en diferentes tiempos de residencia hidráulica, uso de cepas de levadura termotolerantes (45°C), la inmovilización de levaduras termotolerantes en material celulósico deslignificado. El principal inconveniente en casi todas las fermentaciones de lactosuero son las bajas concentraciones de etanol y sus altos costos de recuperación (Ozmihci y Kargi, 2008).

2.2.3.4 Ácidos orgánicos

La producción de ácidos orgánicos como el ácido láctico y ácido propiónico, se obtienen por vía fermentativa a partir de la inoculación del lactosuero con microorganismos (Hernández *et al.*, 2003). El ácido láctico o ácido propiónico α -hidroxi fue descubierto por el químico sueco Scheele en la leche agria. El ácido láctico y sus derivados se utilizan ampliamente en la industria alimentaria, farmacéutica, cuero y textiles.

Recientemente ha aumentado el interés en la producción de ácido láctico, como materia prima para la producción de ácido poliláctico, polímero usado como plástico médico biodegradable. De las 80,000 toneladas/año de ácido láctico producido en el mundo, 90% se hace por fermentación LAB y el resto se produce sintéticamente mediante la hidrólisis de lactonitrilo (Panesar *et al.*, 2007).

2.2.3.5 Productos de panadería y confitería

La lactosa extraída del lactosuero tiene un bajo poder edulcorante, poder calorífico e índice glicémico. Mejora la absorción de calcio y de magnesio. Su cariogenicidad es baja en comparación con otros carbohidratos simples. Los derivados de lactosa: lactulosa, lactitol y galactooligosacáridos, tienen aplicaciones en la industria química, alimenticia y farmacéutica (Schaafsma, 2008). En la industria química y alimenticia se emplea para incrementar la viscosidad y mejorar la textura, como soporte de salsas y sopas, productos de repostería, panadería, confitería, bebidas, cárnicos (salami, jamón), como fuente de galactosa en alimentos infantiles. También es aplicada en postres como cobertura en helados y glaseados. Se usa para conseguir características deseadas en dulces como toffes, turrone, chocolate para caramelos duros, gomas de mascar, malvaviscos, entre otros. En la industria farmacéutica se usa como prebiótico para promover la salud intestinal, como

excipiente en la elaboración de píldoras y grageas, como aditivo para medios de cultivo y en leches maternizadas (Posada *et al.*, 2011).

2.2.3.6 Películas biodegradables y recubrimientos comestibles

La producción de películas comestibles sirve para prolongar la vida útil de los alimentos y aumentar su calidad; actúan como barreras selectivas a la humedad, el gas y la migración de soluto, vehículos de ingredientes funcionales como antioxidantes, agentes antimicrobianos, sabores, especias, colorantes, que mejoran o incrementan la funcionalidad de los materiales de empaque (Zinoviadou *et al.*, 2009).

2.2.4 Exportación de lactosuero

Las exportaciones de lácteos de los Estados Unidos representaron 700 millones de dólares. Las ventas de suero deshidratado dulce crecieron 16% y los envíos de concentrado de proteína de suero de leche aumentaron 6%. China es el principal consumidor de los productos de suero de leche de Estados Unidos de Norteamérica (Pedemonte, 2014). México exportó 7,148 t de lactosuero en el año 2014, con un valor de 16,529 miles de dólares (SIAP-SAGARPA, 2014).

2.3 Probiótico

El término probiótico significa “a favor de la vida”, actualmente se asigna a las bacterias que tienen efectos benéficos a los seres humanos y animales; por tanto, se define así a los microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio (FAO-OMS, 2001).

Los probióticos ayudan a mantener un equilibrio y la composición de la flora intestinal, aumenta la resistencia a patógenos, tienen actividad anticancerígena y antimutagénica, disminuye intolerancia a la lactosa, reduce el nivel de colesterol y la presión arterial, previene y disminuye la incidencia de diarrea, previene la vaginosis bacteriana e infección del tracto urinario, ayuda al mantenimiento de la integridad de la mucosa y mejora la salud periodontal (Franz *et al.*, 2014; Tripathi y Giri, 2014).

Las bacterias lácticas termófilas son conocidas como titulares de las leches fermentadas, principalmente originarias de países de Asia Menor y los Balcanes, como Armenia, Turquía y Bulgaria; esto puede deberse a la temperatura

relativamente alta de incubación, determinada por el clima predominante (Wouters *et al.*, 2002).

Lactobacillus casei es una bacteria gram-positiva, anaerobio facultativa, catalasa-negativa, heterofermentativa facultativa, no forma esporas y se aísla de varios hábitats como carnes, leche, productos lácteos, masa agria y ensilado (Mori *et al.*, 1997), también se ha utilizado como iniciador y en cultivos protectores en verduras fermentadas, embutidos, pescado y productos lácteos (Abriouel *et al.*, 2015).

2.4 Carambola (*Averrhoa carambola* L.)

2.4.1 Origen

La carambola (*Averrhoa carambola* L.) pertenece a la familia de las oxalidáceas, se distribuye en países con clima tropical de centro y Sudamérica, Estados Unidos de Norteamérica, Australia, el sudeste de Asia, incluyendo Malasia, el Sur de China, Taiwán y la India. Es un árbol de 3 a 5 m de altura o puede alcanzar altura máxima de 10 m, con una corteza de color marrón claro finamente fisurada y hojas de 15 a 20 cm de largo. El fruto es una baya de color verde amarillento de 5 a 8 cm de largo con forma característica que asemeja a una estrella de cinco puntas (Figura 2) y cada fruta contiene cinco semillas ariladas (Saghir *et al.*, 2013).



Figura 2. Corte transversal de *Averrhoa carambola* L.

La carambola tiene un gran valor nutricional, y alto potencial antioxidante, el cual varía entre los diferentes cultivares. El índice de madurez es un factor que puede influir en el valor nutricional, en propiedades fisiológicas como el desarrollo de color y la textura de las frutas (Zainudin *et al.*, 2014). Para diferenciar las etapas de madurez se utilizan cinco índices de color (IC): IC 1: verde; IC 2: rastro de amarillo a menos del 25%; IC 3: 25% a 75% de amarillo; IC 4: 75% a 100% de color amarillo; IC 5: completo color naranja o amarillo dorado. Los IC 1 y 2 se refieren al fruto inmaduro, 3 y 4 como fruta madura y 5 como demasiado madura (Abdullah *et al.*,

2007). De acuerdo al Codex Alimentarius (CODEX STAN 187-1993), el calibre de variedades comerciales de carambolas se determina por el peso (**Cuadro 5**) y se aplica a las que se consumen en fresco, después de su acondicionamiento y envasado. Se excluye el fruto destinado a procesos industriales.

Cuadro 5. Clasificación de la carambola por calibres.

Código de calibre	Peso (g)
A	80-129
B	130-190
C	>190

Fuente: CODEX STAN 187-1993.

2.4.2 Composición química

La carambola tiene cualidades farmacológicas como antioxidante, hepatoprotector, antielmíntico, analgésico, hipotensivo, antiinflamatoria, hipoglucémico, antimicrobiana y antiúlceras (Gheewala *et al.*, 2012, Dasgupta *et al.*, 2013). Es una buena fuente de antioxidantes naturales por el contenido de proantocianidinas, (-) epicatequina y vitamina C (Shui y Leong, 2004), la composición química de este fruto se muestra en el cuadro 6. Los análisis de HPLC realizados por Khanam *et al.* (2015), en *A. carambola* demostraron la presencia de ácidos fenólicos y flavonoides como el ácido gálico, ácido 4-hidroxicinámico, 4-hidroxi-3-metoxicinámico, ácido vanílico, kaempferol, luteolina, naringenina, quercetina.

Cuadro 6. Composición de la carambola en base a 100 g de la parte comestible.

Componentes mayores (g)	Minerales (mg)	Vitaminas (mg)
Agua	90.0	Calcio 5.00
Proteínas	0.5	Fósforo 18.00
Grasas	0.3	Hierro 0.40
Carbohidratos	9.0	
Fibra	0.6	
Ceniza	0.4	
		Caroteno (A) 90.00
		Tiamina (B1) 0.04
		Rivoflavina (B2) 0.02
		Niacina (B3) 0.30
		Ac. Ascórbico (C) 35.00

Fuente: Tello *et al.*, 2002.

2.4.3 Usos de la carambola

Es un fruto con diferentes usos tanto en condición fresca ya sea en ensaladas o es utilizada para aderezar carnes, o como jugo de escabeche en Taiwán, Brasil y Myanmar (Tsai *et al.*, 2009), incluso puede ser enlatado, preservado o secado. También es utilizado para la elaboración de encurtidos, salsas, jaleas, vinos, gelatinas, jugos y licores; además está asociado con algunas propiedades medicinales (González-Victoria *et al.*, 2001), como tratar la inflamación de garganta, úlceras bucales, dolor de muelas, tos, asma, hipo, indigestión, intoxicación alimentaria, cólicos, diarrea, ictericia, esplenomegalia palúdica, hemorroides, erupciones en la piel, prurito, insolación y algunos problemas oculares relacionados. Se utilizan como afrodisíaco para hombres y mujeres. En las mujeres, los frutos pueden ser utilizados para aumentar la lactancia y en grandes dosis, que pueden actuar como un emenagogo (Dasgupta *et al.*, 2013).

El consumo de carambola por personas con enfermedad renal crónica o que están en diálisis se asocia a una severa neurotoxicidad, debido a la cantidad de oxalato que ésta contiene. Una dosis letal de oxalato soluble para los seres humanos es de 2 a 30 g y la concentración de oxalato soluble en la fruta estrella varía de 80 mg a 730 mg / 100 mL (Massey, 2007; Neto *et al.*, 2009; Tsai *et al.*, 2009).

2.4.4 Producción de carambola

En México el carambolo es un fruto poco conocido; sin embargo, en el 2014 su producción fue de 634.73 toneladas, reportadas en Michoacán, Jalisco, Nayarit, Colima, Morelos, Tabasco, Yucatán y Veracruz (SIAP-SAGARPA, 2014).

2.5 Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener)

2.5.1 Origen

El género *Passiflora*, que comprende cerca de 500 especies, es el más grande de la familia Passifloraceae (la familia flor de la pasión) y varias especies se cultivan en las zonas tropicales por sus frutos comestibles (Dhawan *et al.*, 2004). Las especies más importantes por su producción de frutos comestibles son: *P. edulis* Sims. (maracuyá morado); *P. edulis* Sims. forma *flavicarpa* Deg. (maracuyá amarillo); *P. ligularis* Juss. (granada china); *P. mollissima* Bailey (sinónimo de *Tacsonia mollissima* HBK.); *P. quadrangularis* L. (granadilla gigante) y *P. laurifolia* L. (limón de agua) (Schwentenius *et al.*, 1997).

2.5.2 Descripción del cultivo

Las plantas son bejucos que crecen a través de un sistema de tutorado y con zarcillos auxiliares. El tallo tiene características leñosas y herbáceas, son escaladas, muy raramente arborescentes; con hojas alternas, a veces simples, enteras, lobuladas o palmadas, a veces compuestas; las estípulas germinan a la base de los peciolos, rara vez ausentes. Las flores son bisexuales o unisexuales, regulares. El gran receptáculo es a menudo ahuecado como una taza o cuenca y tiene numerosos apéndices filamentosos o anulares entre la corola y los estambres, que pueden ser de colores brillantes y forman una corona visible de gran diversidad. El fruto puede ser una baya o cápsula que posee numerosas semillas con arilo, endospermo carnoso y embrión recto (**Figura 3**) (Dhawan *et al.*, 2004; Carvajal de Pavón *et al.*, 2011).



Figura 3. Corte transversal del fruto de *Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener.

2.5.3 Usos de maracuyá

Los usos del maracuyá son diversos, su principal presentación es como jugo simple o concentrado para ser utilizado en bebidas o en la industria láctea y repostería, con la finalidad de generar nuevos sabores en la industria de jugos y bebidas de los países desarrollados. La cáscara se utiliza en la industria de alimentos para animales, mientras que el aceite de la semilla se puede utilizar como materia prima en varias industrias, incluyendo alimentos, detergentes, cosméticos, suplementos vitamínicos y biodiesel. Por la belleza de la flor se usa como planta de ornato (Schwentenius *et al.*, 1997; Malacrida y Neuza, 2012).

El jugo de la fruta es rico en carbohidratos (2.4 g/100 mL), calcio (5 mg/100 mL), fósforo (17 mg/100 mL), vitamina A (648 mg/100 mL), vitamina C (20 mg/100 mL) y vitamina B2 (0.1 mg /100 mL). Presenta cualidades farmacológicas como sedativo y

antiespasmódico (Ramírez-Villalobos *et al.*, 2009). Entre los principales fitoconstituyentes de las especies de *Passiflora* tenemos a los flavonoides, glucósidos, alcaloides, compuestos fenólicos y los componentes volátiles, los cuales son importantes en la prevención de varias enfermedades. Se usan como preparaciones de venta libre en todo el mundo para contrarrestar síntomas de la andropausia, la menopausia, como calmante para niños hiperactivos, para la ansiedad severa debido al insomnio, inquietud y nerviosismo (Dhawan *et al.*, 2004).

2.5.4 Producción de maracuyá

Brasil es el mayor productor y consumidor de fruta de la pasión en el mundo. La especie económicamente más importante de maracuyá es *Passiflora edulis Sims* f. *Flavicarpa* Deg., representa 95% del área de cultivo en sistemas ecológicos o convencionales (Janzantti *et al.*, 2012). En México la producción de Maracuyá fue de 534.62 toneladas, el estado de Veracruz es el mayor productor con 454 t, seguido de los estados de Nayarit (31.5 ton), Jalisco (29.4 ton) y Guerrero (28.7 ton) (SIAP-SAGARPA, 2014).

En Atzalan, Veracruz *Passiflora edulis Sims* f. *Flavicarpa* Degener se cultiva 51% en clima templado, 40% en cálido y 9% en cálido húmedo. El 64% de las parcelas tienen suelos arcillosos, 15% arcilloso-limoso, 10% pedregoso-arenoso y 11% desconoce el tipo de suelo. Los principales problemas naturales que afectan a la región son las fuertes lluvias, corrientes de aire, inundaciones, sequías y pocas heladas, en promedio tiene seis meses de lluvias por año y cuatro meses de sequía. El 56% de los terrenos son lomeríos, 24% montañosos y 20% entre planicie y valle (Entrevista personal: CRUO Chapingo, 2015).

2.6 *Stevia rebaudiana* Bertoni

2.6.1 Origen

S. rebaudiana Bertoni se clasificó botánicamente en 1899 por Moisés Santiago Bertoni. El principio dulce fue aislado por primera vez en 1909 y en 1931 fue purificado el extracto para producir esteviósido (Lemus *et al.*, 2012), el cual es el componente abundante en la hoja de *stevia*, conocido por su intenso dulzor (250-300 veces más dulce que la sacarosa) y se utiliza como edulcorante no calórico para una variedad de alimentos y bebidas en varios países, entre ellos Japón y América del Sur (Kroyer, 2010), el cual no se absorbe en el intestino, ni se

metaboliza por las enzimas del tracto gastrointestinal (González-Chávez, 2013). Sin embargo, al igual que la caña de azúcar en México existen zonas de alto potencial para cultivar esta planta con éxito. En México el principal productor es el estado de Nayarit con 139.20 t, Chiapas 18.10 t y Veracruz 1.30 t (SIAP-SAGARPA, 2014), la cual es refinada para obtener un alto grado de pureza, mediante proceso industrial.

2.6.2 Descripción botánica

Stevia es una hierba perenne que mide hasta 1 m de altura o más, con amplias raíces y tallos quebradizos que producen hojas pequeñas elípticas. Las hojas son sésiles, 3-4 cm de largo, lanceoladas o en forma espatulada con punta roma, la superficie superior es ligeramente pubescente granular. El tallo es leñoso y débil-pubescente en la parte inferior. Las flores son pentámeras, pequeñas y blancas con una garganta de color púrpura pálido, están rodeadas por un involucro de epicáliz, nacen en pequeños corimbos de 2-6 floretes dispuestas en panículas sueltas. El fruto es una aquenio en forma de huso de cinco nervaduras (Lemus *et al.*, 2012).

2.6.3 Características de los glicósidos de *S. rebaudiana*

Los glicósidos son compuestos que contienen una molécula de carbohidrato unido a una fracción no carbohidrato, éstos compuestos se encuentran principalmente en las plantas y pueden ser convertidos por escisión hidrolítica en un azúcar y un componente no-carbohidrato (aglicona). Se nombran específicamente por el tipo de azúcar que contienen, como glicósidos (glucosa), pentosas (pentosa), fructosidasa (fructosa), entre otros (Bernal *et al.*, 2011). Además de los glicósidos de esteviol conocidos: esteviósido, rebaudiosidos A-F, rubusósido y dulcósido A. Posteriormente se identificaron dos nuevos glicósidos diterpenoides de un extracto comercial de hojas de *Stevia rebaudiana* (Chaturvedula y Prakash, 2011). Estudios han conducido al aislamiento de otros siete glicósidos dulces de esteviol que se muestran en la **Figura 4**. La estabilidad del esteviósido en diferentes condiciones de procesamiento y almacenamiento es importante para la aplicación efectiva en bebidas calientes como café y té, donde el esteviósido a temperaturas elevadas durante 1 h, mostró una buena estabilidad a 120 °C en solución acuosa. Es notablemente estable en el intervalo de pH 2 a 10 (Kroyer, 2010).

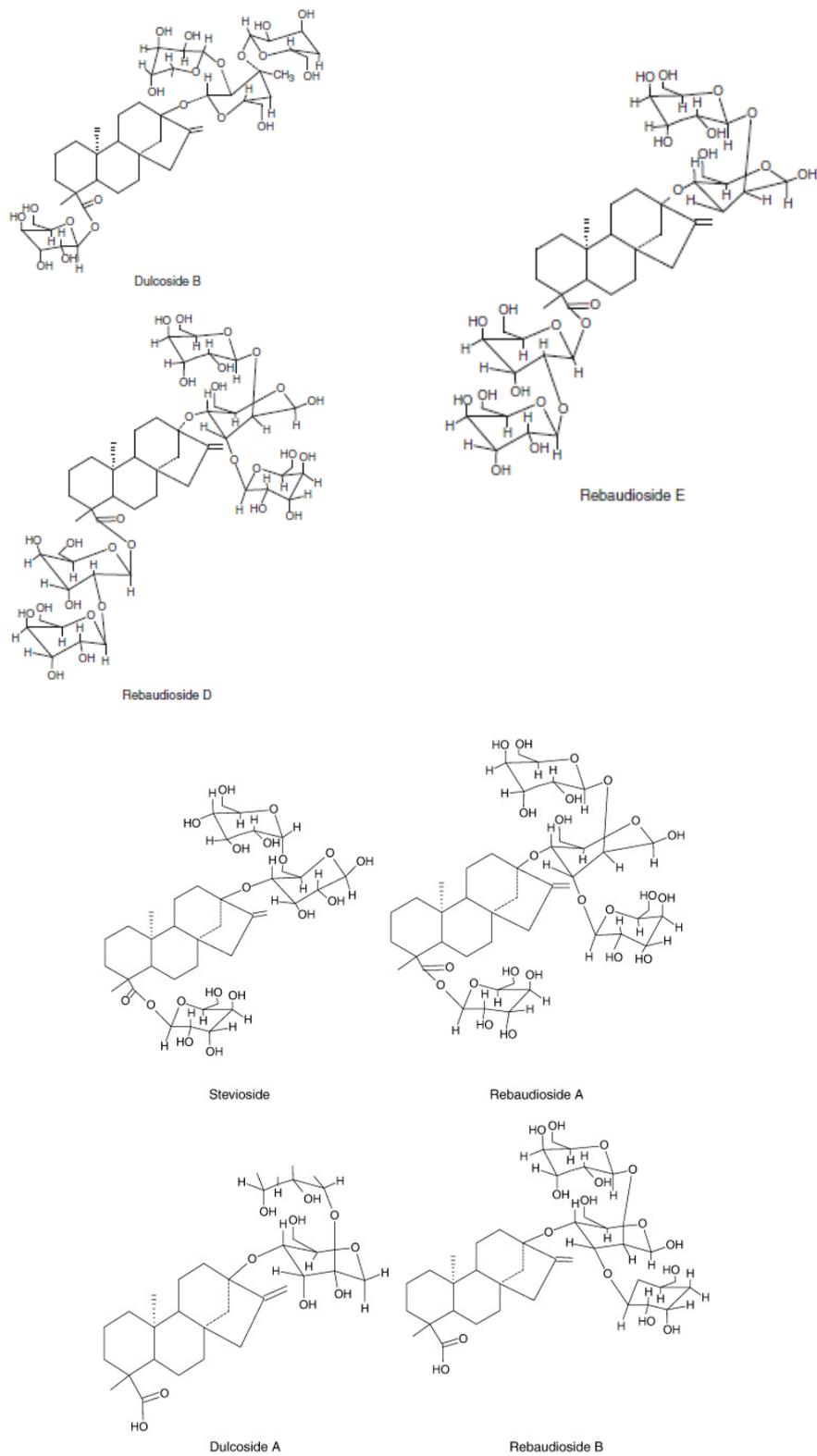


Figura 4. Estructura química de los principales glucósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Kroyer, 2010).

2.6.4 Beneficios de la estevia

La estevia tiene dos mercados distintos, se utiliza para los pacientes diabéticos y como edulcorante nutritivo como alternativa al azúcar comercial (jarabe de maíz, fructosa, glucosa, sacarosa, entre otros)(Puri *et al.*, 2011).

El esteviósido junto con compuestos relacionados como rebaudiósido A, esteviol e isosteviol (componentes metabólicos de esteviósido) pueden ofrecer beneficios terapéuticos, ya que tienen efectos anti-hiperglucémico, antihipertensivos, antiinflamatorios, antitumoral, antidiarreico, diurético y acciones inmunomoduladoras (Chatsudthipong y Muanprasat, 2009).

2.7 Aditivos alimentarios

El Codex Alimentarius (CODEX STAN 192-1995) entiende por aditivo alimentario cualquier sustancia que no se consume normalmente como alimento, ni se usa como ingrediente básico en alimentos, tenga o no valor nutritivo, cuya adición intencionada al alimento con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus fases de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaçado, transporte o almacenamiento, resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que influya en sus características. No incluye “contaminantes” o sustancias añadidas al alimento para mantener o mejorar las cualidades nutricionales.

Con base en la función que cumplen en el alimento al que se incorporan, los aditivos alimentarios se clasifican en colorantes, conservadores, antioxidantes y reguladores del pH, estabilizantes, agentes antigrumos, potenciadores de sabor, otros (Calvo y Mendoza, 2012).

2.7.1 Sacarosa

La sacarosa está compuesta por los monosacáridos glucosa y fructosa que se unen en 1-2 por hidroxilos anómeros, es al mismo tiempo a-glucósido y b-fructósido, que se hidroliza por a y b-glicosidasa. Por esta razón no es reductora, cuando se hidroliza aparece el poder reductor de la glucosa y de la fructosa libres (Primo, 1995).

2.7.2 Goma guar

Es obtenida del endospermo de la semilla de la planta guar *Cyamopsis tetragonolobus*, de la India y Pakistán. Está formada por una cadena lineal de manosa con ramificaciones de galactosa cada dos manosas. Se disuelve completamente en agua fría produciendo alta viscosidad; sin embargo, no gelifica, su principal uso es como formador de cuerpo, estabilizante y ligador de agua. Muestra acción sinérgica con la goma xantana, el carragenato y la CMC (carboximetilcelulosa) (Romero del Castillo y Mestres, 2004).

2.8 Análisis sensorial en los alimentos

Los productos destinados a la alimentación deben cumplir con los parámetros de calidad (microbiológicos, físicos y nutricionales) estipulados en las normas y con las características organolépticas dado que la aceptación de un producto es un factor de decisión importante cuando se trata de un nuevo producto o mejorar uno existente. Por tanto, la calidad de los alimentos es un conjunto de propiedades y características que le confieren aptitud para satisfacer unas necesidades, implícitas o expresadas por el consumidor (Ávila y González, 2011).

El análisis sensorial es una ciencia interdisciplinaria en la que panelistas utilizan complejas interacciones de los sentidos para medir las características sensoriales y la aceptabilidad de los productos. Su evaluación está basada en la respuesta a estímulos cuyas sensaciones son: intensidad, magnitud, duración, calidad, placer o desagrado; mientras que los estímulos pueden ser cuantificados por métodos físicos y químicos, las sensaciones son medidas por procesos psicológicos (Cavalcanti *et al.*, 2013).

2.9 Capacidad antioxidante

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre la generación de especies de oxígeno/nitrógeno reactivo (ROS/RNS) y la capacidad de las células para neutralizarlos por el antioxidante defensa. La principal fuente de ROS es en la cadena de transporte de electrones (ETC) en la membrana mitocondrial interna, donde la energía se genera en forma de ATP. Durante el ETC los electrones se transfieren desde NADH y FADH₂ a través de cuatro unidas a la membrana, complejos I-IV, al oxígeno que finalmente genera agua (Persson *et al.*, 2014).

El daño inducido por radicales libres en el estrés oxidativo se ha confirmado como un contribuyente a la patogenia y fisiopatología de problemas de salud crónicos, como enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia y la esclerosis lateral amiotrófica Huntington), enfermedades respiratorias, cardiovasculares e inflamatorias, las cataratas, diabetes y el cáncer (Temple, 2000; Pisoschi y Pop, 2015) e incluso el envejecimiento. Por lo que se ha sugerido que una dieta rica en antioxidantes es de beneficio para la salud humana (López y Denicola, 2013). Los antioxidantes pueden interferir con los ciclos oxidativos para inhibir o retardar el daño oxidativo de las biomoléculas. Las principales clases de compuestos con actividad antioxidante son: vitaminas (C y E), carotenoides (carotenos y xantofilas) y polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos y estilbenos) (Oroian y Escriche, 2015).

Existen diversos ensayos para la medición de la actividad antioxidante total de fluidos corporales, extractos de alimentos y compuestos puros (Re *et al.*, 1999). Estos implican la evaluación de la actividad antioxidante total y la identificación individual y cuantificación de diferentes sustancias antioxidantes. Sin embargo, antes de la cuantificación se requiere la extracción de los diferentes compuestos de la matriz del alimento, lo cual implica el uso de disolventes orgánicos, fluidos supercríticos, procedimientos de microondas, extracción subcrítica de agua, alta presión hidrostática, campos eléctricos pulsados o ultrasonidos (Oroian y Escriche, 2015).

Los métodos *in vitro* utilizados para la consecución de la actividad antioxidante son: DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), la determinación de la capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC), la determinación férrico reductor (FRAP), capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) y el ensayo de la capacidad de captación de radicales hidroxilo (HRSCA). Todos los métodos utilizados en la cuantificación de la actividad antioxidante total implican las reacciones de las especies reactivas del oxígeno con algunos reactivos y el complejo formado es detectado espectrofotométricamente VIS a diferentes longitudes de onda (Oroian y Escriche, 2015).

2.9.1 DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazil)

Es uno de los pocos radicales orgánicos de nitrógeno estable centrado (**Figura 5**) descubierto por Goldsmith y Renn en 1922, evalúa las propiedades de barrido de

radicales directos de antioxidantes (Boudier *et al.*, 2012). Se encuentra disponible en el mercado, exhibe una absorción UV-vis máximo a 515 nm. Tras la reducción, el color de la solución se desvanece, el progreso de la reacción se controla convenientemente mediante un espectrofotómetro (Huang *et al.*, 2005).

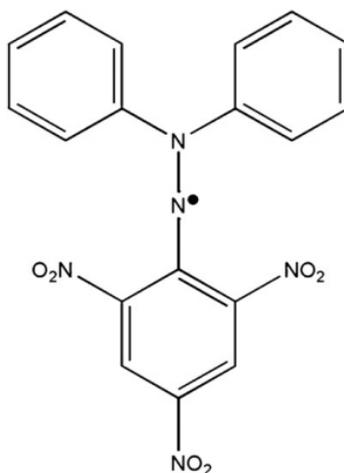


Figura 5. Estructura del radical 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil (Boudier *et al.*, 2012)

2.9.2 ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio)

El catión radical (ABTS^{•+}) es pregenerado enzimáticamente y el antioxidante o muestra a analizar se añade al medio de reacción, para donar un electrón que genera un radical catión (ABTS^{•+}) de larga vida (Figura 6) (Sekher *et al.*, 2001) que es medida por la disminución en la absorbancia (entre 400 y 750 nm pueden ser seleccionados para evitar la interferencia de absorción exógena). Es un método fácil y rápido de realizar, presenta numerosas ventajas ya que evita reacciones no deseadas, las altas temperaturas no son necesarias para generar radicales y la actividad antioxidante pueden ser estudiadas en un amplio intervalo de valores de pH (Arnao *et al.*, 2001).

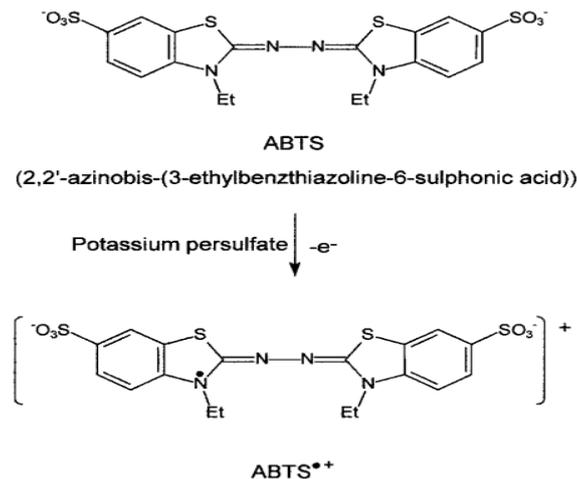


Figura 6. Formación de radical catión ABTS (Sekher *et al.*, 2001).

2.9.3 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un grupo grande y diverso de metabolitos secundarios en plantas, que se pueden clasificar en compuestos insolubles en agua (taninos condensados, ligninas y ácidos hidroxicinámicos unida a las células de pared) y en compuestos solubles en agua (ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides y quinonas) (Rispaill *et al.*, 2005). Abundan en frutos, semillas, vegetales y productos alimenticios y bebidas derivadas, cuyo consumo regular es beneficioso para la salud humana. Tienen capacidad de eliminar los radicales libres generados por oxidación, tales como los derivados de lípidos y ácidos nucleicos, útiles en la reducción del riesgo de ciertas degeneraciones y enfermedades relacionadas con la edad (Quideau *et al.*, 2011). También son antialérgicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antioxidantes, antitrombótico, cardioprotector y tienen efectos vasodilatadores (Balasundram *et al.*, 2006).

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, entre otros) (Martínez *et al.*, 2000). Estos compuestos son medidos por el método Folin-Ciocalteu, colorimétrico sensible que permite el análisis de compuestos orgánicos con anillos aromáticos hidroxilados. Por lo tanto, los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu (fosfomolibdato y fosfotungstato), resultando en una coloración azul que se puede determinar espectrofotométricamente a 750 nm utilizando patrones de referencia los ácidos gálico o cafeico (Velázquez *et al.*, 2015)

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el estado de Veracruz el lactosuero generado a partir de la elaboración de queso fresco es considerado un residuo, por lo que no es aprovechado en su totalidad. Es destinado al consumo de ganado o desechado en suelos, causando un problema de contaminación. Sin embargo, el lactosuero por sus propiedades nutritivas y la cantidad de lactosa que posee, es una excelente materia prima para la elaboración de bebidas fermentadas para consumo humano.

La agregación de valor a una bebida láctea con base en lactosuero es una alternativa para la utilización de este subproducto. Por una parte el uso de frutas no tradicionales de importancia regional como el carambolo (*Averrhoa carambola* L.) y el maracuyá (*Passiflora edulis* Sims), se pueden usar para enriquecer esta bebida. Edulcorada con estevia podría generar un producto funcional con gran potencial para personas jóvenes y adultas propensas o con diabetes, incidir en la reducción de la obesidad en el Estado (Veracruz ocupa el primer lugar en obesidad y diabetes en nuestro país), mejorar los hábitos alimenticios, disminuir la desnutrición, coadyuvar a la seguridad alimentaria y reducir la contaminación del medio ambiente. Por otra parte, es posible ofrecer una alternativa de aprovechamiento sustentable del lactosuero y agregar valor a la cadena de producción de lácteos a los productores de queso artesanal jarocho de la región.

IV. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una bebida funcional a base de lactosuero de queso fresco jarocho, jugo de frutas no tradicionales y estevia.

Objetivo Específicos:

1. Caracterizar física y químicamente el lactosuero, el jugo de frutas y el extracto de estevia.
2. Formular y caracterizar las bebidas probióticas de lactosuero con jugo de carambolo o maracuyá, endulzadas con estevia, y evaluar su estabilidad en almacenamiento.
3. Determinar la capacidad antioxidante de las materias primas y de las bebidas probióticas de lactosuero.
4. Evaluar la aceptabilidad de las bebidas probióticas de lactosuero y jugo de carambola o maracuyá, endulzadas con estevia.

V. HIPÓTESIS

Las bebidas probióticas de lactosuero enriquecidas con jugo de carambola o maracuyá, endulzadas con estevia, tendrán un valor nutricional de acuerdo a normas, calidad microbiológica requerida, capacidad antioxidante comparable a productos alimenticios con niveles altos, y tendrá buena aceptabilidad por el estrato de personas jóvenes.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Los análisis físicos, químicos y microbiológicos se realizaron en los laboratorios de alimentos y de microbiología del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, ubicada en km 348 Carretera Federal Córdoba, Amatlán de los Reyes, Veracruz.

Las materias primas utilizadas en la elaboración de la bebida fueron: lactosuero dulce fresco del proceso artesanal de queso jarocho, frutos de maracuyá y carambola, hojas de estevia deshidratadas, sacarosa comercial, goma guar comercial y cultivo láctico termófilo (fermentos lácticos concentrados liofilizados para inoculación directa: *Lactobacillus casei*).

OBJETIVO METODOLÓGICO 1.

Caracterizar física y químicamente el lactosuero, el jugo de frutas y el extracto de estevia.

6.1 Materia prima

6.1.1 Lactosuero

Muestras aleatorias de lactosuero dulce de tres queserías artesanales de la comunidad de Paso Carretas, Tlaxicoyan, Veracruz, fueron obtenidas en el mes de junio de 2014. Los análisis realizados: densidad, pH, acidez, °Brix y materia grasa. El lactosuero se obtuvo de la elaboración de queso fresco artesanal jarocho de leche cruda sin pasteurizar. Las muestras se obtuvieron en frascos limpios, secos y etiquetados, se transportaron en una hielera a 4°C para su análisis inmediato en el laboratorio de alimentos del Campus Córdoba.

6.1.2 Carambola y maracuyá

Se utilizaron 6 kg de carambola (*Averrhoa* L.) adquiridos en el mercado local de Cd. Mendoza, Veracruz, en estado de maduración para consumo en fresco, con coloración amarilla uniforme. El maracuyá se recolectó en estado maduro (6 kg) en la región de Atzalan, Veracruz. Fueron transportados al laboratorio en una reja de madera para evitar daños mecánicos. Con muestreo por cuarteo se tomaron 16 frutos de carambola y 15 de maracuyá para determinaciones físicas.

6.1.2.1 Proceso de obtención del jugo de carambola y maracuyá

Para extraer el jugo se tomaron los frutos restantes de carambola, se lavaron con agua potable, se cortaron en cubos retirando las semillas, aristas y puntas para introducir a un extractor casero, enseguida se pasó por un colador para eliminar partículas grandes, finalmente se pasó por un tamiz de acero inoxidable de 70 μm . Para obtener el jugo de maracuyá, el fruto se cortó a la mitad, se extrajo el jugo de maracuyá manualmente, se separó de la semilla, se pasó por una coladera y el tamiz indicado. Finalmente, se pasteurizó el jugo por separado a 65°C por 30 minutos (**Figura 7**).

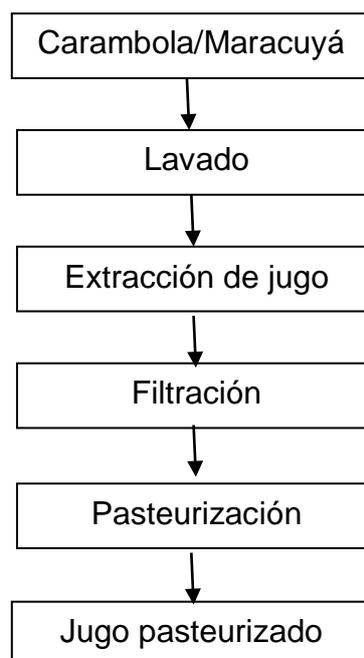


Figura 7. Diagrama del proceso de obtención del jugo de carambola y maracuyá.

6.1.3 Estevia rebaudiana

La estevia deshidratada fue proporcionada por una empresa local de Orizaba, Veracruz, cultivada de forma orgánica, las hojas fueron secadas a temperatura ambiente sobre una malla plástica durante 1 día en invernadero.

6.1.3.1 Obtención del extracto de estevia

Las hojas deshidratadas secas se trituraron en un mortero hasta tener polvo, para homogenizar partículas se pasó por un tamiz (abertura 177- 0070 pulgadas núm. 80 marca Mont Inoxidable). El extracto se preparó con 25 g de polvo tamizado y 1000

mL de agua destilada, en agitación por 90 min (parrilla Thermo Scientific) a temperatura ambiente, se filtró en un filtro Whatman No.1 y se conservó a 4°C hasta su uso.

6.2 Análisis físicos, químicos y microbiológicos

En el **Cuadro 7** se presentan las técnicas utilizadas para el análisis físico y químico de los frutos de maracuyá y carambola, así como del extracto de estevia. Los análisis microbiológicos realizados al suero dulce se muestran en el **Cuadro 8**. En consideración de la normatividad mexicana.

Cuadro 7. Técnicas de análisis físicos y químicos para el lactosuero, fruto, jugo y extracto de estevia.

Parámetro	Suero fresco	Fruto	Jugo	Estevia	Técnica
Longitud (cm)		x			Vernier
Diámetro(cm)		x			Vernier
Peso (g)		x			Balanza Ohaus
Firmeza (kg.F)		x			Penetrómetro
Color (L*, C y °H)	x	x	x	x	Konica Minolta
Humedad (%)	x	x		x	NMX-F-083-1986
Densidad (kg/cm ³)	x				Lactodensímetro
pH	x		x		Potenciómetro
Acidez (%)	x		x	x	NMX-F-420-1982
Sólidos solubles (°Brix)	x		x		Refractómetro
Grasa (%)	x				NMX-F-387-1982
Proteína (%)	x				Método BCA
Lactosa (%)	x				Lane y Eynon
Ceniza (%)	x	x		x	AOAC 923.03, 2005

Cuadro 8. Análisis microbiológicos realizados al suero fresco.

Análisis	Suero fresco	Método
Mesófilos aerobios	x	(NOM-243-SSA1-2010)
Coliformes totales	x	(NOM-243-SSA1-2010)
<i>Salmonella</i> spp.	x	(NOM-243-SSA1-2010)
<i>Staphylococcus aureus</i>	x	(NOM-243-SSA1-2010)

6.2.1 Peso, diámetro y longitud

La biomasa fresca se evaluó directamente en una balanza Ohaus modelo Scout Pro SP2001 (NJ USA). El diámetro y longitud fueron medidos con un vernier milimétrico de acero inoxidable.

6.2.2 Rendimiento en jugo

El rendimiento (R) de jugo respecto a la masa de la fruta se determinó con la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{(\text{Peso.del.jugo})}{(\text{peso.de.la.fruta})} \times 100$$

6.2.3 Firmeza

Se utilizó un Penetrómetro (Shimadzu modelo EZ-S 500N software Trapezium) con un punzón de 3 mm de diámetro. Los valores fueron expresados en kg fuerza necesarios para penetrar la fruta.

6.2.4 Color

El color se evaluó con el colorímetro portátil Konica Minolta modelo CR-400 (Japón) calibrado con un azulejo blanco estándar. Se tomaron tres lecturas a 16 frutos de carambola y 16 de maracuyá frescos tomados al azar de un lote de 6 kg y se reportan los valores promedio. Las muestras de las bebidas se colocaron en cajas de Petri, llenas completamente.

Los resultados expresan los tres atributos del color: el ángulo de tono $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$ para a^* (valores negativos indican verde y positivos rojo) y b^* (valores negativos indican azul y positivos amarillo) positivos, y $h^\circ = 180 + \arctan(b^*/a^*)$ para a^*

negativo y b^* positivo; croma (saturación de color) $C=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ y valor L^* (luminosidad o brillantez, del negro al blanco).

6.2.5 Humedad

La humedad se determina en consideración de la NMX-F-083-1986. 5 g de muestra se llevan a peso constante por 6 horas a 110 °C en un horno analógico (Felisa mod. FE-242A). Se hace uso de la fórmula:

$$\% \text{Humedad} = \frac{(P - P_1)}{(P_2)} \times 100$$

Donde:

P: Peso del recipiente con la muestra húmeda (g).

P₁: Peso del recipiente con la muestra seca (g).

P₂: Peso de la muestra (g).

6.2.6 pH

Se realizó la medición directa de la muestra con un potenciómetro (Thermo Scientific Orion 3 Star) previamente calibrado y estandarizado con soluciones buffer de pH (NMX-F-317-S-1978).

6.2.7 Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable (NMX-F-420-1982) se realizó por triplicado a 10 mL de muestra se adicionan 3 gotas de fenolftaleína como indicador y se titula con una solución 0.1 N de NaOH, los resultados se expresan como porcentaje de ácido cítrico para las frutas y de ácido láctico para las bebidas de lactosuero.

6.2.8 Densidad

El peso específico del suero se determinó con un lactodensímetro de Quevenne (NMX-F-424-S-1982). La muestra se mezcló cuidadosamente y se vació en una probeta, se introdujo el lactodensímetro en la parte central evitando tocar la pared interna de la probeta. Después de 30 segundos se tomó la lectura a 20 °C.

6.2.9 Sólidos solubles totales (°Brix)

Se utilizó un refractómetro digital marca Hanna (HI 96801 0-85% Brix). Se colocó una gota de muestra en el refractómetro previa calibración del equipo con agua destilada, posteriormente se tomó la lectura en °Brix (NMX-F-112-NORMEX-2010).

6.2.10 Grasa

Se utilizó el método de Gerber (NMX-F-387-1982), que consiste en la digestión de los componentes proteicos de la muestra (11 mL) con ácido sulfúrico (10 mL) y ácido amílico (1 mL) en un butirómetro, se cierra y agita; enseguida los butirómetros se colocan en baño María (65°C) por 10 minutos, se centrifugan cinco minutos para separar la grasa y tomar la lectura.

6.2.11 Proteína

La determinación de proteínas se realizó por el método del ácido bicinconínico (BCA) (Smith *et al.*, 1985) utilizando el kit BCA-1 Sigma. Se preparó una curva estándar con albúmina sérica bovina con diluciones seriadas a partir de una solución madre de 2 mg/mL; 125 µL son colocados en tubos estándar o con la muestra. Se adicionan 1000 µL del reactivo C (reactivo A (ácido bicinconínico) con reactivo B (sulfato de cobre) en proporción 50:1) y se mezcla en vortex. Se llevan a baño María 37°C, 30 minutos (VWR 89032-224) y se dejan enfriar a temperatura ambiente. La absorbancia se mide a 562 nm en el espectrómetro (Genesys 10S UV-visible Thermo Scientific), respecto al blanco con agua bidestilada.

6.2.12 Lactosa

La concentración de lactosa se determinó por el método de Fehling (NOM-155-SCFI-2003). Se usaron soluciones Fehling A, Fehling B, azul de metileno al 1%, lactosa pura anhidra y solución de NaOH al 40%. 0.475 g de lactosa y 50 mL de HCl se mezclan y calienta a 70°C por 3 min en baño María, enseguida se enfría a chorro de agua, se neutraliza con 5.8 mL de NaOH y se afora a 100 mL. Una solución de 5 mL de Fehling A y 5 mL de Fehling B, con 100 mL de agua destilada se calienta a ebullición y se titula con la solución de lactosa antes preparada hasta que el color azul desaparece, se agregan 2 gotas de la solución de azul de metileno y se continua la titulación hasta que apareció un color naranja y se presentó un

precipitado de óxido cuproso. Se registró el volumen gastado de la solución de lactosa. El cálculo se realiza como sigue:

10 mL de Fehling= mL de solución azúcar*5 = mg de lactosa invertida

% reductores directos= F*Dilución *10/ m

Donde:

F= equivalente en g de Fehling.

m= muestra en g.

6.2.13 Ceniza

5 g de muestra se incineran en la mufla (Thermo Scientific™ Thermolyne™) por 2 horas a 500 °C (AOAC 923.03, 2005). Se usa la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times 100$$

Donde:

m₂: masa de la cápsula con las cenizas (g).

m₁: masa de la cápsula con la muestra (g).

m₀: masa de la cápsula vacía (g).

6.2.14 Vitamina C

La concentración de vitamina C se determinó por titulación con el indicador 2,6-diclorofenolindofenol (NMX-F-229-1972), el cual es reducido por el ácido ascórbico a una composición incolora. Se preparó el estándar de ácido ascórbico disolviendo 100 mg de ácido ascórbico en 100 mL de ácido metafosfórico a 3%. Se tomaron 10 mL de esa mezcla y se diluyeron en 100 mL de ácido metafosfórico a 3%. Para la solución indofenol se pesaron 50 mg de 2,6-diclorofenolindofenol y se disolvieron en 150 mL de agua destilada con 42 mg de NaHCO₃ (bicarbonato de sodio), se agitó hasta disolución y se aforó con agua destilada a 200 mL.

La normalización de la solución de 2,6-diclorofenolindofenol se realizó utilizando 5 mL de ácido ascórbico estándar, preparada con 5 mL de ácido metafosforico a 3%, ésta mezcla se tituló con la solución teñidora (indofenol) hasta que el color rosa persistiera por 15 segundos. Para realizar la determinación se pesaron 2 g de muestra, se trituroó adicionando 50 mL de la solución de ácido metafosfórico a 3%.

Esta mezcla se transfirió a una probeta y se aforó a 10 mL con agua destilada, se agitó y filtró. Finalmente, 10 mL del filtrado se titularon con solución estandarizada de indofenol. Vira de azul a rosa con la presencia del ácido e inmediatamente se decolora por la vitamina C presente.

Cálculo:

$$AA = (X - B) * (F / E) * (V / Y)$$

Donde:

AA=ácido ascórbico en mg

X = promedio de mL de diclorofenolindofenol gastados en la muestra.

B = promedio de mL de diclorofenolindofenol gastados en el blanco.

F = mg ácido ascórbico equivalente a 1.0 mL de solución estándar de diclorofenol.

E = peso o volumen de la muestra.

V = volumen inicial de la solución ensayada.

Y = volumen de muestra o alícuota titulada.

(V/Y)= dilución empleada.

6.2.15 Bacterias mesófilas aerobias

Se efectuaron las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} que se inocularon en agar para métodos estándar (BD Bioxon), se incubaron a 37 °C por 24 horas. Los resultados se expresan en Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL) (NOM-092-SSA1-1994).

6.2.16 Bacterias coliformes totales

1 mL de las diluciones indicadas se sembraron en placas de Agar Rojo Bilis Violeta (BD Bioxon), se incubaron a 37 °C por 24 ± 2 horas. Se contaron las colonias color azul a rojo-azul y asociadas a gas atrapado. Los resultados se expresaron en UFC/mL (NOM-243-SSA1-2010).

6.2.17 *Salmonella* spp

Las muestras fueron preenriquecidas en 225 mL de caldo lactosado, se incubó a 35°C por 24 h. Se tomó 1 mL de muestra preenriquecida y se inoculó en caldo tetrionato (TT) y selenito cistina (SC), se incubó a 35 °C por 24 h. Se tomó una asada y se sembró en agar *Salmonella-Shigella* XLD y verde brillante y se incubó a

35 °C por 24 h. Las colonias con crecimiento característico (color magenta) fueron confirmadas con pruebas bioquímicas (triple azúcar Urea, Agar lisina hierro) (NOM-243-SSA1-2010).

6.2.18 *Staphylococcus aureus*

Para la detección de *S. aureus*, se transfirió 0.1 mL de las diluciones realizadas a cajas de Petri con agar selectivo para estafilococos no. 110 (DIBICO), posteriormente se incubaron a 35°C por 24 h (NOM-243-SSA1-2010).

OBJETIVO METODOLÓGICO 2.

Formular y caracterizar las bebidas probióticas con base en carambolo y evaluar su estabilidad en almacenamiento.

6.3 Formulación de las bebidas

Se realizaron pruebas preliminares para la formulación final de las bebidas, se consideraron las propuestas de Londoño *et al.* (2008) y Parra *et al.* (2012). Se establecieron seis tratamientos diferenciados por la concentración de azúcar y estevia, dos (TCE y TCEA) con jugo de carambolo, dos (TME y TMEA) de maracuyá y dos testigos (TCA y TMA) (**Cuadro 9**). El suero de leche representó 70 % (m/m) del total, superior a lo establecido para bebidas de suero en la NTE INEN 2609:2012 (indica un mínimo de 50 % m/m).

Cuadro 9. Composición de las bebidas de lactosuero.

Ingredientes	TCE	TCEA	TCA	TME	TMEA	TMA
Suero	750	750	750	750	750	750
Jugo de fruta	177.5	177.5	177.5	177.5	177.5	177.5
Goma guar	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Azúcar	0	35	70	0	35	70
Extracto de Stevia	70	35	0	70	35	0

TCE: carambola y estevia, TCEA: carambola, estevia-azúcar, TCA: carambola y azúcar, TME: maracuyá y estevia, TMEA: maracuyá, estevia-azúcar, TMA: maracuyá y azúcar.

6.3.1 Proceso de elaboración de bebidas de lactosuero

El proceso de elaboración se basó en la propuesta de Londoño *et al.* (2008) y Sepúlveda *et al.* (2002). Para cada tratamiento se utilizaron 2 L de suero fresco a 4°C, se filtró con filtros para café para eliminar residuos de cuajada y otras partículas, enseguida se adicionó el estabilizante a 0.25% (Arazo *et al.*, 2010) hasta disolver por completo; se llevó a 45 °C para adicionar el edulcorante (estevia o azúcar) y se homogenizó por 5 minutos en parrilla magnética. Se pasteurizó a 75°C 5 minutos, y se enfrió a temperatura de fermentación 39-42°C, se realizó inoculación directa con *Lactobacillus casei* (Lyofast BGP 93, Clerici Sacco, batch no. C108042A) a 0.1% p/v para obtener 10⁷ UFC/mL, se agitó 5 min y se dejó fermentar 6 horas a 37 °C. En esta etapa se determinó pH y acidez cada hora. La fermentación se detiene por enfriamiento rápido a 4-8 °C, para disminuir la formación de ácido láctico. Enseguida, se adicionó el jugo pasteurizado y se agitó hasta homogenizar. La bebida se almacenó a 4 °C en botellas de plástico limpias por triplicado. El proceso se muestra en la **Figura 8**.

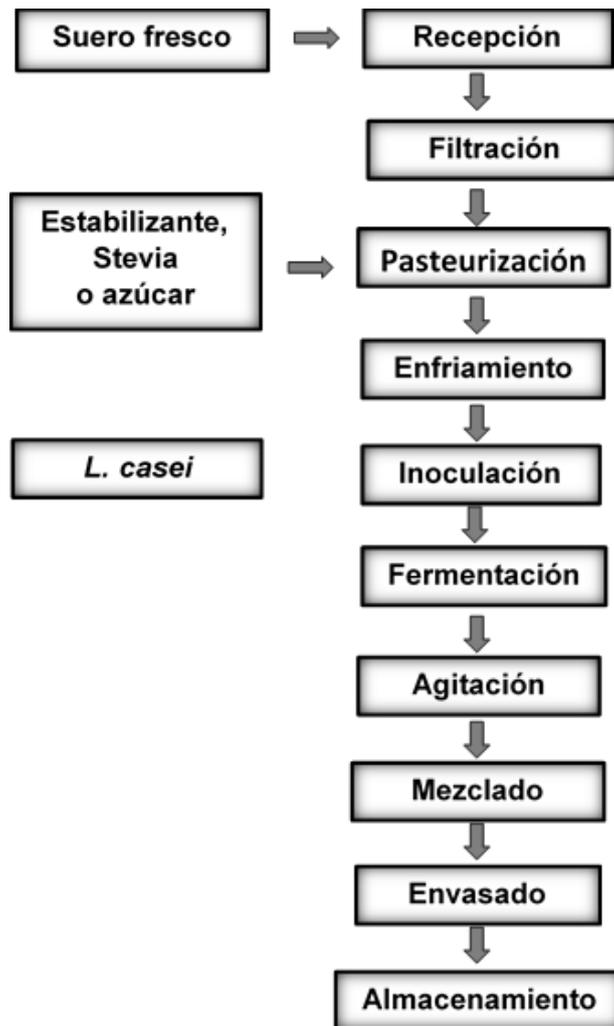


Figura 8. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de bebidas de lactosuero con jugo de carambola y maracuyá endulzadas con estevia.

Fuente: Londoño *et al.* (2008) y Sepúlveda *et al.* (2002).

A las bebidas se les realizaron análisis físicos, químicos (**Cuadro 10**) y conteo de probiótico a 1, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 4 °C. La determinación de bacterias coliformes totales, *S. aureus* y *Salmonella* se realizaron el día 1 para asegurar la inocuidad del producto final (**Cuadro 11**). Ver apartados 6.2.4 a 6.2.18.

Cuadro 10. Técnicas de análisis físicos y químicos para bebidas de lactosuero.

Parámetros	Bebidas	Técnica
Color (L*, H y C)	x	Colorímetro Konica Minolta
Humedad (%)	x	AOAC 925.10, 1990
pH	x	Potenciómetro
Acidez titulable (%)	x	NMX-F-420-1982
Sólidos solubles (°Brix)	x	Refractómetro
Proteína (%)	x	Método BCA
Lactosa (%)	x	Método Lane y Eynon (Fehling)
Ceniza (%)	x	AOAC 923.03, 2005

Cuadro 11. Análisis microbiológicos realizados a las bebidas de lactosuero.

Análisis	bebidas	Método
MRS	x	(NOM-F-703-COFOCALEC-2012)
Coliformes totales	x	(NOM-243-SSA1-2010)
<i>Salmonella</i>	x	(NOM-243-SSA1-2010)
<i>S. aureus</i>	x	(NOM-243-SSA1-2010)

6.4 Conteo de probiótico (MRS)

El conteo de bacterias lácticas en las bebidas se realizó los días 1, 7, 14 y 21 de almacenamiento a 4 °C. Se preparó el agar MRS (Difco, E.U.A) como se indica en el frasco, se realizaron diluciones seriadas, se inoculó 1 mL de dilución en 12 mL de medio, se mezclan por rotación hasta solidificar. Se incubaron las cajas en posición invertida a 37°C, 72 h y se realizó el conteo de UFC/mL. Los análisis se realizaron por triplicado (NOM-F-703-COFOCALEC-2012).

La viabilidad del probiótico en la bebida se evaluó con tinción de lugol. Se tomó una asada de la colonia de *L. casei*, se colocó en un portaobjetos con una gota de agua destilada y se homogenizó, se dejó secar y se fijó el frotis con mechero, se colocan dos gotas de cristal violeta y se dejó actuar 1 min, se enjuagó con agua, enseguida se adicionaron dos gotas de lugol (mordente del primer colorante) y se dejó actuar 1 minuto, se enjuagó y se repitió el paso anterior con una solución de alcohol/acetona,

se añadió safranina por un minuto y se enjuagó. Se observó al microscopio con el objetivo 100x. Los análisis son realizados por triplicado, los resultados son presentados en promedio y desviación estándar.

6.5 Diseño experimental para evaluar las bebidas

Los datos para cada variable fisicoquímica de las bebidas elaboradas a base de lactosuero, jugo de fruta (maracuyá y carambola) y edulcorante (estevia, azúcar o mezcla de ambos) durante el periodo de almacenamiento (1, 7, 14 y 21 días), fueron analizados utilizando el Procedimiento Mixed de SAS® (versión 9.2, SAS institute, Cary, NC). El modelo estadístico usado en el análisis fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \alpha\beta(rep)_{ij(l)} + T_k + (\alpha T)_{ik} + (\beta T)_{jk} + (\alpha\beta T)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

$i=1,2; j=1, 2, 3; k=1, 2, 3, 4; l=1, 2, 3.$

Donde:

Y_{ijkl} es la variable respuesta observada, μ es la media general, α_i es el efecto del jugo de fruta, β_j es el efecto del tipo de edulcorante, $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto de la interacción entre el jugo de fruta y el tipo de edulcorante, $\alpha\beta(rep)_{ij(l)}$ es el efecto aleatorio de la interacción entre el jugo de fruta y el edulcorante dentro de repeticiones, asumiendo $\alpha\beta(rep)_{ij(l)} \sim N(0, \sigma_{\alpha\beta(rep)}^2)$, T_k es el efecto del periodo de almacenamiento, $(\alpha T)_{ik}$ es la interacción entre el jugo de fruta y el periodo de almacenamiento, $(\beta T)_{jk}$ es la interacción entre el tipo de edulcorante y el periodo de almacenamiento, $(\alpha\beta T)_{ijk}$ es la triple interacción entre jugo de fruta, tipo de edulcorante y periodo de almacenamiento, finalmente ϵ_{ijkl} es el error experimental con $\epsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$.

La estructura de covarianza utilizada en este análisis fue de simetría compuesta (CS, Compound Symmetry). Los grados de libertad para las pruebas F y comparación de medias fueron estimados por el ajuste de Kenward y Roger (1997). Los valores de significancia $\alpha=0.05$.

OBJETIVO METODOLÓGICO 3.

Determinar la capacidad antioxidante de las materias primas y de las formulaciones probióticas.

6.6 Capacidad antioxidante

Se determina la capacidad antioxidante de la materia prima y de las bebidas terminadas bajo los métodos desarrollados por diferentes autores (**Cuadro 12**).

Cuadro 12. Métodos para determinar la capacidad antioxidante en suero, jugo, extracto de estevia y bebidas de lactosuero.

Parámetros	Suero fresco	Jugo	Estevia	Bebidas	Método
Vitamina C		x			NMX-F-229-1972
DPPH	x	x	x	x	Brand <i>et al.</i> , 1995
ABTS	x	x	x	x	Arnao <i>et al.</i> , 2001
Fenoles	x	x	x	x	Singleton y Rossi, 1965

6.6.1 Preparación de extractos acuosos

Los extractos acuosos para determinar compuestos fenólicos y actividad antioxidante de las bebidas se prepararon de acuerdo a Eberhardt *et al.* (2005). Se pesaron 0.5 g de cada muestra, se añadieron 10 mL de H₂O destilada, se agitaron 20 s y se colocaron en la parrilla de agitación a 2000 rpm 30 min a temperatura ambiente. La suspensión se filtró con un embudo Buchner con filtro Whatman no. 1. El filtrado se recuperó y se aforó a 10 mL con agua destilada.

6.6.2 Método DPPH

La actividad antioxidante de las bebidas se determinó mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazilo) descrito por Brand *et al.* (1995), con modificaciones de Thaipong *et al.* (2006). Se preparó una solución patrón, 24 mg de DPPH (Aldrich®, Alemania) en 100 mL de metanol (grado HPLC), y se almacenó a -4 °C hasta su uso. La solución de trabajo, 10 mL de solución patrón más metanol hasta obtener una absorbancia de 1.1 ± 0.02 unidades a una longitud de onda de 515 nm (espectrómetro Genesys 10 UV-visible Thermo Scientific). La curva estándar de

trolox (Aldrich®, Rusia) con concentraciones de 25 a 800 μM . De las concentraciones y de las muestras se tomaron 150 μL en viales, se adicionaron 2850 μL de la solución trabajo de DPPH y se dejaron reaccionar 2 horas en oscuridad a temperatura ambiente, y se midió la absorbancia a 515 nm.

Los resultados se expresan en porcentaje de reducción del radical DPPH y en μmoles equivalentes de trolox por gramo de muestra fresca ($\mu\text{M ET/g}$); se consideró la siguiente fórmula: % de DPPH reducido= $((A_0 - A_m) / A_0) \times 100$, donde A_0 es la absorbancia del testigo (sin extracto) y A_m la absorbancia de la muestra. Los análisis se realizaron por triplicado.

6.6.3 Método ABTS

La capacidad antioxidante también se midió por el radical ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio)) de acuerdo al procedimiento de Arnao *et al.* (2001), modificado por Thaipong *et al.* (2006). Se prepararon dos soluciones madre: 7.4 mM radical ABTS (Sigma®, Canadá) y 2.6 mM solución de persulfato de potasio (J.T. Baker®, EUA). Se mezclaron las dos soluciones madre para la solución patrón ABTS, se dejó reposar 12 horas a temperatura ambiente, bajo oscuridad. Enseguida 1 mL de solución patrón ABTS se diluyó con metanol (grado HPLC) hasta una absorbancia de 1.1 ± 0.02 unidades a 734 nm (espectrómetro Genesys 10 UV-visible Thermo Scientific). Se usó una curva estándar de trolox (Aldrich®, Rusia) en concentraciones de 25 a 800 μM . A 150 μL de las concentraciones y de muestra, se adicionaron 2850 μL de solución de trabajo ABTS, se dejó reaccionar 7 min en oscuridad a temperatura ambiente y se lee la absorbancia a 734 nm. Se utilizó la siguiente fórmula para el porcentaje de reducción:

$$\% \text{ ABTS reducido} = (\text{Abs}_{\text{blanco}} - \text{Abs}_{\text{muestra}} / \text{Abs}_{\text{blanco}}) \times 100,$$

Donde:

$\text{Abs}_{\text{blanco}}$ = absorbancia del blanco (solución de trabajo sin muestra).

$\text{Abs}_{\text{muestra}}$ = absorbancia de la muestra.

Los resultados se reportaron en micromoles equivalentes de Trolox ($\mu\text{M ET/g}$) de muestra fresca. Los análisis se realizaron por triplicado.

6.6.4 Compuestos fenólicos

Se consideró a Singleton y Rossi (1965) con modificaciones de Rojas *et al.* (2009), se basa en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilos de los fenoles por el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Se preparó una disolución patrón de ácido gálico 50 mg/25 mL. La curva de calibración consideró 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 mL de la disolución patrón en 10 mL. La preparación de la muestra para lectura: 20 µL de extracto o curva de calibración, 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1580 µL de agua destilada se dejaron reposar a temperatura ambiente 5 min. Enseguida 300 µL de solución de carbonato de sodio al 20%, se dejó reposar 2 h. Se realizó la lectura a 765 nm (espectrómetro Genesys 10 UV-visible Thermo Scientific), el blanco fue con agua destilada más los reactivos. Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico/g de muestra.

OBJETIVO METODOLÓGICO 4.

Evaluar la aceptabilidad de las bebidas de lactosuero.

6.7 Evaluación de la aceptabilidad

La bebida preferida por el consumidor se seleccionó con el método de Ordenamiento de Preferencia, con el apoyo de un panel no entrenado de 144 personas de la Unidad de Servicios Bibliotecarios y de Información (USBI) Ixtaczoquitlán, Ver. Se formaron dos bloques al azar, el primero degustó las bebidas de carambola y el segundo las de maracuyá. Tres muestras de 20 mL se ofrecieron en vasos de plástico No. 0 con código de tres cifras, y agua potable para usar entre muestras.

El cuestionario se organizó en tres partes. La parte I con información demográfica (edad, sexo, ocupación y procedencia). La parte II una escala hedónica de 9 niveles, de menor a mayor aceptación. La parte III una escala binomial (sí/no) para determinar la aceptación general y la intención de compra.

6.7.1 Diseño experimental del análisis sensorial

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a los datos normalizados 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 $\alpha=0.05$.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Características físicas y químicas del lactosuero, jugo de carambola y maracuyá y extracto de estevia

Las características de calidad de un producto alimenticio normalmente dependerán de las proporciones de los ingredientes individuales que están presentes en las formulaciones (Gordillo *et al.*, 2012), en este caso es el suero de leche, el jugo de fruta y el edulcorante. El suero utilizado en las bebidas cumplió (**Cuadro 13**) con los parámetros establecidos por la norma mexicana para suero de leche líquido pasteurizado, similares a los encontrados en las investigaciones de Aydin y Çakmakçi (2014) y Brito *et al.* (2015). El contenido de grasa es menor a lo reportado en otras investigaciones y superior a lo establecido en la Norma mexicana. El bajo contenido de grasa en el suero es deseable, ya que muestra un buen rendimiento quesero, esta concentración depende de las características de la leche y de la intensidad del trabajo mecánico antes y después de la coagulación (Faría *et al.*, 2002).

La composición del lactosuero está en función a los procesos tecnológicos en la elaboración del queso y del origen de la leche (Monsalve y González, 2005).

La carga microbiana es elevada dado que se consideró suero fresco sin pasteurizar, el proceso es artesanal y se utiliza leche bronca. Se evidenció la necesidad de buenas prácticas de higiene en el proceso de elaboración del queso, como uso de equipo de acero inoxidable para eficiencia de la limpieza, utensilios y almacenamiento.

El **Cuadro 14** presenta las características de las frutas frescas, maracuyá y carambola, usadas en las bebidas, los valores son expresados en base húmeda.

Las características de los frutos de carambola son comparables a lo reportado por Siller *et al.* (2004), en longitud, diámetro y peso de 7.9 cm, 4.2 cm y 57.6 g. Reportaron valores de L* 39.7, C* 22.4 y °Hue 93.8, y concluyeron que los frutos de color amarillo presentaron mayor resistencia al daño mecánico en el manejo poscosecha y mostraron menor pérdida de humedad. Por ello, la selección de frutos más pesados es importante en la calidad industrial ya que tienen mayor rendimiento en pulpa y resistencia al transporte en largas distancias (Espitia *et al.*, 2008).

Cuadro 13. Características físicas, químicas y microbiológicas del suero fresco, especificaciones de la norma mexicana y otros autores.

Parámetros		Aydin y Çakmakçi, 2014	Brito <i>et al.</i> ,2015	NMX-F-721-COFOCALEC-2012
L*	54.45±0.73	---	---	---
C*	9.19±0.42	---	---	---
°H	104.56±0.41	---	---	---
Humedad (%)	94.27 ±0.01	---	84.64	---
Densidad (Kg/m ³)	1026.5 ±0.00	1.022	1.022	1.023-1.026
pH	6.69 ±0.02	6.34	6.45	6.4-6.7
Acidez (%)	0.09 ±0.01	---	0.178	0.07-0.12
Sól. solubles (°Brix)	5.83 ±0.06	---	6.6	---
Grasa (%)	0.15 ±0.00	0.50	0.58	0.10 máx.
Proteína (%)	0.78±0.00	0.78	0.87	0.72 mín
Lactosa (%)	4.90 ±0.1	---	---	4.7 mín.
Cenizas (%)	0.30 ±0.01	0.49	0.55	0.53 mín.
Mesófilos	8.13*10 ⁴	---	---	10000 máx.
Coliformes T.	7.50*10 ³	---	---	100 máx.
<i>Staphylococcus A.</i>	3.90*10 ³	---	---	---
<i>Salmonella spp.</i>	ausencia	---	---	---

Los valores son expresados como media ± desviación estándar (n=3).

Cuadro 14. Parámetros físicos y químicos de los frutos frescos de carambola y maracuyá.

Parámetro	Carambola	Maracuyá
Largo (cm)	8.89±0.89	6.56±0.41
Diámetro (cm)	4.86±0.48	6.89±0.46
Peso (g)	57.05±9.14	117.27±21.23
Firmeza (Kg.F)	0.72±0.28	2.65±0.20
L*	54.01±1.41	75.52±1.69
C*	29.19±3.34	46.64±3.69
°Hue	96.27±2.12	91.69±2.81
Humedad (%)	92.19±0.18	80.74±0.32
Cenizas (%)	0.46±0.04	0.49±0.03

Los valores son expresados como media ± desviación estándar (n=3)

La firmeza es relevante para el consumidor, muestra la consistencia y la textura de las frutas, y la relación con la madurez (Gutiérrez *et al.*, 2007). La firmeza de los frutos de carambola fue menor (0.72 kg.F) que lo encontrado por Siller *et al.* (2004) quien obtiene valores inferiores a 1.5 kg.F con un punzón de 8 mm. Respecto a los valores de humedad y cenizas, son comparables a los obtenidos por Tello *et al.* (2002), de 89.70% de humedad y 0.49 % de cenizas.

Las dimensiones de los frutos de maracuyá son comparables a lo reportado por Devi *et al.* (2013), 6.24 ± 0.21 cm de largo, 5.63 ± 0.25 cm de diámetro y un peso de 88.41 ± 3.18 g. La humedad, es similar a los valores de Carvajal *et al.* (2014), de 76%, ellos reportaron superior en cenizas (0.84%). Los parámetros de color son similares a los que obtenidos por Aular *et al.* (2002): Luminosidad 78.5, Cromo 44.9 y Hue 91.3. Las propiedades del fruto y del jugo de maracuyá no son independientes, el peso del fruto está directamente relacionado con la acidez del jugo y el peso de la semilla con arilo (Espitia *et al.*, 2008). La fruta posee compuestos que las hacen diferentes en sus características fisicoquímicas,

sensoriales y rendimiento, varían de entre especies y cultivares (Villalba *et al.*, 2006) resultado de las condiciones agroecológicas del cultivo (Schwentenius *et al.*, 1997). El **Cuadro 15** presenta las características de los jugos de maracuyá y carambola. Belén *et al.* (2011) reportaron para jugo de carambola pH y °Brix más elevados (3.45 ± 0.02 y 9.2 ± 0.3 respectivamente), acidez titulable menor (0.415 ± 0.012 %). Los resultados de este trabajo son comparables a los de Devi *et al.* (2013) en jugo de maracuyá, pH de 3.16 ± 0.01 , °Brix 10.7 ± 0.67 % y acidez titulable 3.03 ± 0.19 %. El rendimiento de jugo fue de 64.59% en carambola, inferior a lo encontrado por Villalba *et al.* (2006) (86.60%); en maracuyá de 38.14% menor al reportado por Aular y Rodríguez (2003) (41.86%), el restante es la porción no comestible (corteza, semillas y células pétreas).

Cuadro 15. Características físicas y químicas del jugo de carambola y maracuyá

Parámetros	Jugo carambola	Jugo maracuyá
L	57.50 ± 0.50	51.51 ± 0.84
C	26.17 ± 1.64	45.79 ± 2.02
°Hue	103.99 ± 0.25	91.76 ± 0.38
pH	3.01 ± 0.01	2.85 ± 0.01
Acidez (%)	0.50 ± 0.00	3.56 ± 0.02
°Brix (%)	7.67 ± 0.12	16.67 ± 0.06

Los valores son expresados como media \pm desviación estándar (n=3)

Las características del extracto de estevia se presentan en el siguiente cuadro.

Cuadro 16. Valores de pH, acidez, humedad y cenizas en el extracto de estevia.

Parámetros	Estevia
pH	5.37 ± 0.010
Acidez (%)	0.061 ± 0.003
Humedad (%)	94.31 ± 0.37
Cenizas (%)	0.04 ± 0.01

Los valores son expresados como media \pm desviación estándar (n=3)

7.2 Características y comportamiento de parámetros de las bebidas probióticas de lactosuero, carambola y maracuyá durante el almacenamiento

7.2.1 Color

El color de un alimento es una consideración importante en la elección de los consumidores, a menudo se asocia con un mejor sabor y permite la discriminación de un producto (Benkeblia *et al.*, 2011). El color es un atributo de apariencia de los productos, su observación permite detectar ciertas anomalías y defectos (Adbullah *et al.*, 2004). Es un factor crítico de calidad en alimentos frescos y procesados.

7.2.1.1 Luminosidad

La luminosidad es utilizada en colorimetría para definir ciertos sistemas colorimétricos, llamados sistemas cromáticos uniformes. La luminosidad en las bebidas de lactosuero endulzadas con azúcar fue ligeramente superior que en las bebidas con estevia y estevia-azúcar. El extracto de estevia oscurece las bebidas (Figura 9).

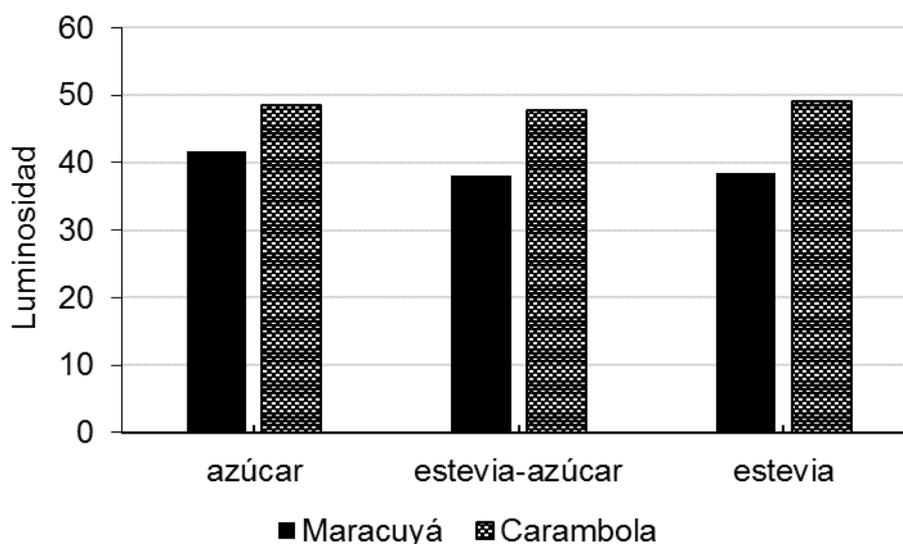


Figura 9. Luminosidad de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en relación al edulcorante

La **Figura 10** muestra la luminosidad de las bebidas de lactosuero de acuerdo al periodo de almacenamiento. Estos resultados son comparables con los reportados

por Sady *et al.* (2013) en una bebida de suero ácido con concentrado de naranja durante 12 meses de almacenamiento, de 50.6 (mes 0) a 48.7 (mes 12).

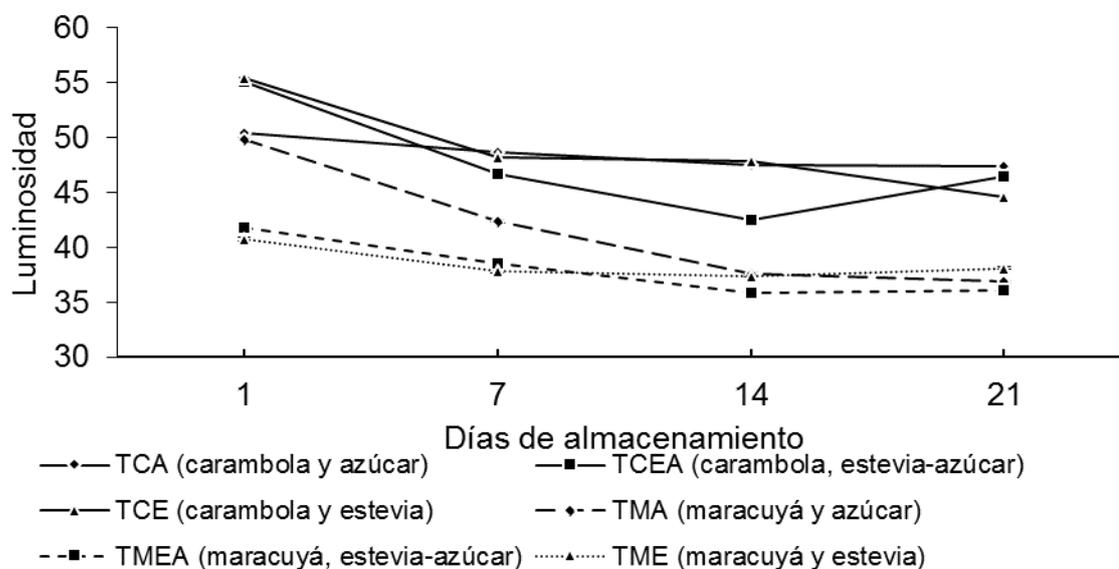


Figura 10. Luminosidad en las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia, durante el periodo de almacenamiento.

La luminosidad de las bebidas fue estadísticamente diferente en función del jugo de fruta, el edulcorante y el periodo de almacenamiento ($p < 0.0001$). El jugo de maracuyá con luminosidad de 51.51, incidió en la bebida de 39.42; las bebidas con jugo de carambola tuvieron una luminosidad de 48.40.

El extracto de estevia incidió en valores de luminosidad más bajos en las bebidas de lactosuero (22.68). El tiempo de almacenamiento también tuvo efecto en la luminosidad de la bebida, disminuyó durante el periodo (**Cuadro 17**).

Cuadro 17. Efecto de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre la luminosidad durante 21 días de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	44.15 ^d	53.63 ^a	50.15 ^a	48.47 ^b	48.07 ^b
7	39.58 ^e	47.86 ^b	45.52 ^c	42.60 ^{ed}	43.04 ^d
14	36.94 ^f	45.96 ^c	42.60 ^{ed}	39.14 ^g	42.61 ^{ed}
21	37.03 ^f	46.15 ^c	42.14 ^e	41.29 ^f	41.34 ^f
MSE	0.1551	0.1551	0.1344	0.1344	0.1344

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.1.2 Croma

El croma, saturación o intensidad, representa la pureza o intensidad de un color particular, la viveza o palidez del mismo, y puede relacionarse con el ancho de banda de la luz que estamos visualizando. La **Figura 11** muestra el croma de las bebidas de lactosuero en función del tipo de edulcorante, que fue más alto en las endulzadas con estevia.

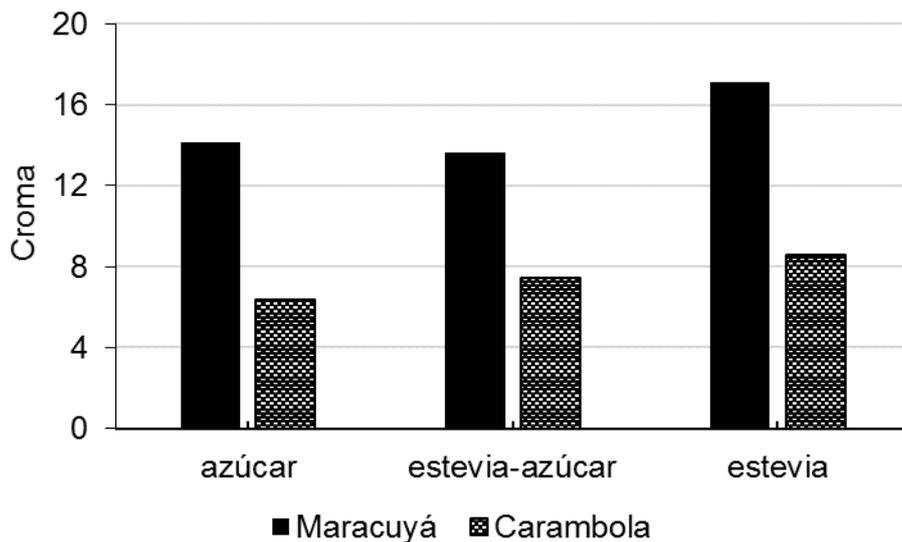


Figura 11. Croma de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá y carambola en relación al edulcorante.

El croma de las bebidas tuvo diferencias estadísticamente significativa respecto al jugo de fruta, el tipo de edulcorante y el tiempo de almacenamiento. Las bebidas con jugo de maracuyá tuvieron valores más altos que las de carambola (**Figura 12**), con variación marcada el día 14 de almacenamiento.

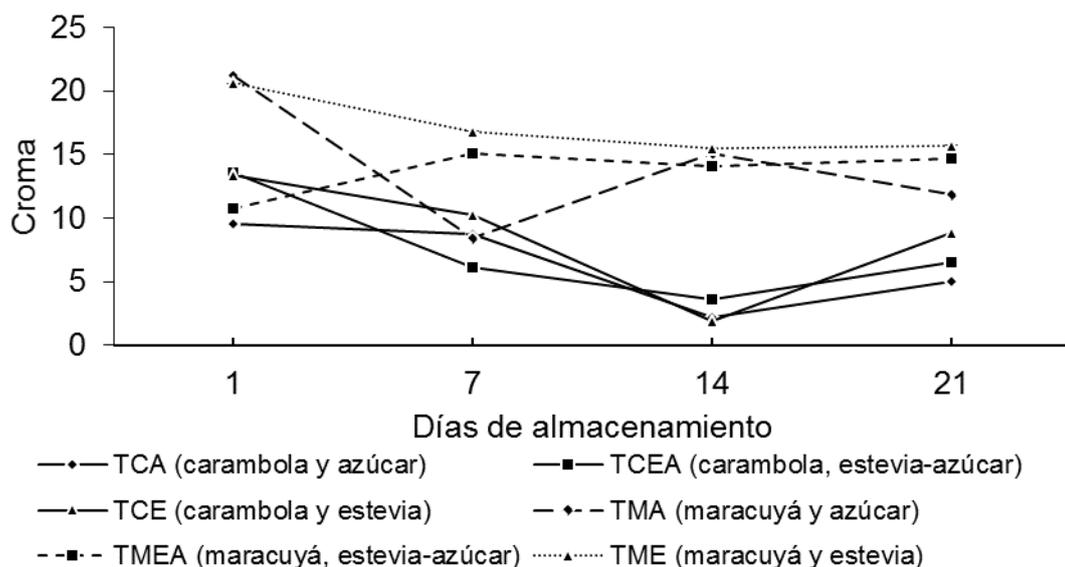


Figura 12. Cambios en el croma de bebidas de lactosuero, jugo de maracuyá o carambola y estevia, durante 21 días de almacenamiento.

Las bebidas de lactosuero tuvieron tendencia a disminuir su croma al aumentar el periodo de almacenamiento, el croma promedio de las bebidas de carambola fue de 7.46, y de maracuyá de 14.97.

Existieron diferencias muy significativas del efecto del jugo de fruta, el tipo de edulcorante y el periodo de almacenamiento en las bebidas de lactosuero ($p \leq 0.0001$), así como de las interacciones entre jugo de fruta y el tiempo ($p \leq 0.0001$), el edulcorante y el tiempo ($p \sim 0.0007$), jugo de fruta, edulcorante y tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$) sobre el croma de las bebidas preparadas (**Cuadro 18**).

Cuadro 18. Efecto de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre el croma durante 21 días de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo de fruta		Edulcorante		
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	17.51 ^a	12.13 ^c	15.34 ^{ba}	12.16 ^{dc}	16.95 ^a
7	13.44 ^{cb}	8.35 ^d	8.61 ^{fe}	10.57 ^{de}	13.51 ^{bc}
14	14.87 ^b	2.59 ^e	8.67 ^{fe}	8.82 ^{fe}	8.69 ^{fe}
21	14.07 ^b	6.79 ^d	8.42 ^f	10.61 ^{de}	12.26 ^{dc}
MSE	0.5965	0.5965	0.7306	0.7306	0.7306

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.1.3 Hue o matiz

El matiz o Hue, es el estado puro del color, sin el blanco o negro, se asocia con la longitud de onda dominante en la mezcla de ondas luminosas, es un atributo del color que nos permite distinguir el rojo del azul, y se refiere al recorrido que hace un tono hacia uno u otro lado del círculo cromático. El ángulo de Hue de las bebidas de lactosuero estuvo influenciado por el tipo de edulcorante y el tipo de jugo ($p \leq 0.0001$). Los valores más altos los presentaron las bebidas endulzadas con azúcar (**Figura 13**).

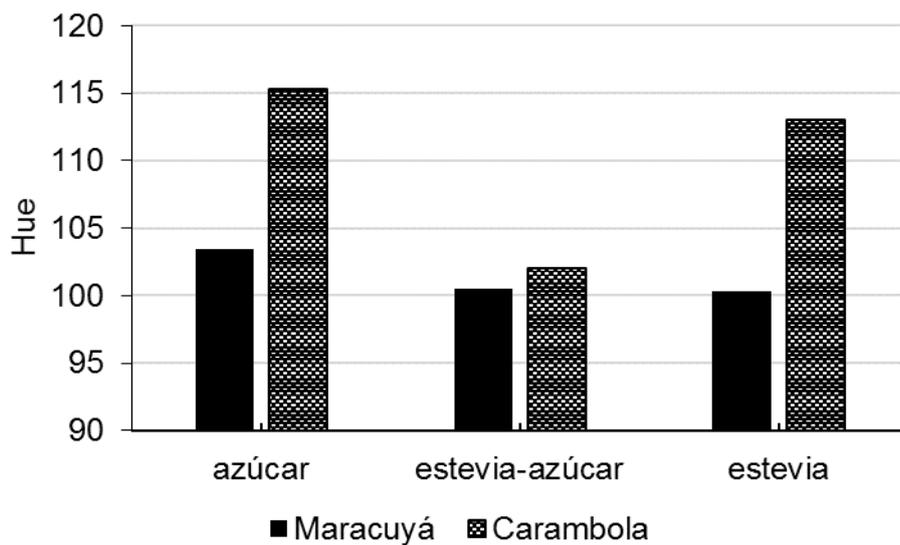


Figura 13. Variación del matiz de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.

A pesar de que se observa poca variabilidad en el valor de Hue en las bebidas de maracuyá en función al tiempo de almacenamiento (**Figura 14**), existe diferencia significativa. También se observa gran variabilidad en las bebidas de carambola, los valores más altos se tuvieron en el día 14.

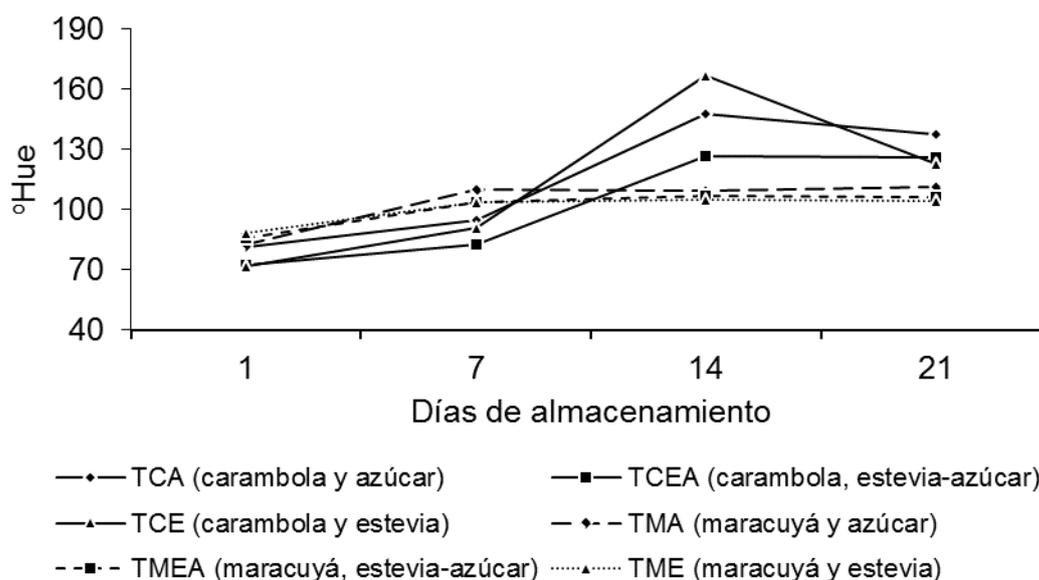


Figura 14. Variación del matiz en las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola endulzado con estevia durante el periodo de almacenamiento.

El análisis de varianza mostró diferencias muy significativas respecto al efecto del jugo de la fruta sobre el matiz, dado que la coloración de la bebida fue resultado del color del suero y el jugo de la fruta principalmente (jugo de maracuyá, Hue=103.99 y carambola 91.76). También, el efecto del edulcorante mostró diferencia estadísticas significativas y el periodo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$) y la interacción del jugo, edulcorante y periodo de almacenamiento (**Cuadro 19**).

Cuadro 19. Efecto de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre el matiz durante 21 días de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	85.59 ^d	75.16 ^e	82.11 ^f	79.17 ^f	79.84 ^f
7	105.73 ^c	89.43 ^d	102.33 ^d	93.13 ^e	97.29 ^e
14	107.08 ^c	147.02 ^a	128.41 ^b	116.77 ^c	135.96 ^a
21	107.34 ^c	128.76 ^b	124.67 ^b	115.88 ^c	113.59 ^c
MSE	1.4440	1.4440	1.7685	1.7685	1.7685

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.2 Humedad

El porcentaje de humedad más bajo se obtuvo en las bebidas de lactosuero endulzadas con sacarosa (**Figura 15**), dada su función higroscópica que contribuye a la disminución de agua en el alimento (Kitts, 2010).

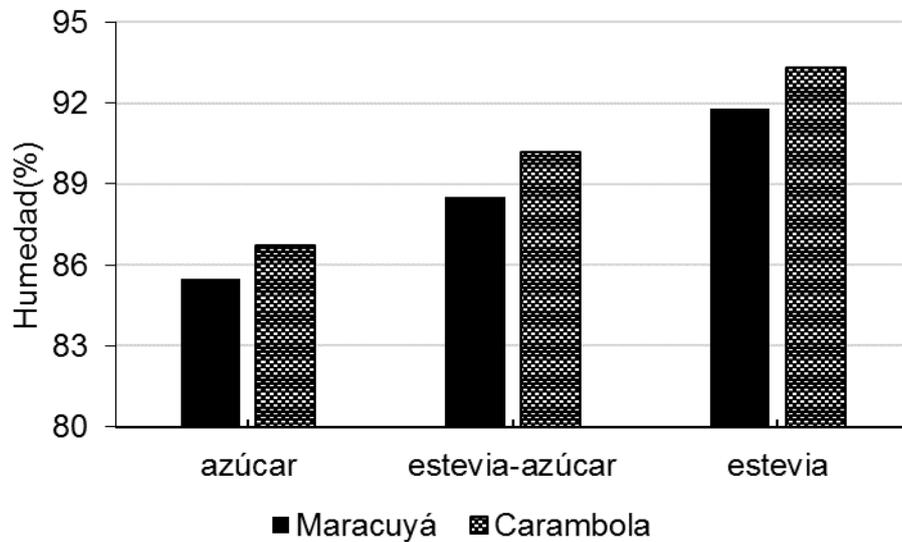


Figura 15. Contenido de humedad en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.

La humedad de las bebidas de lactosuero fermentadas fue comparable, no hubo diferencia significativa en la interacción jugo-edulcorante-tiempo de almacenamiento (**Figura 16**).

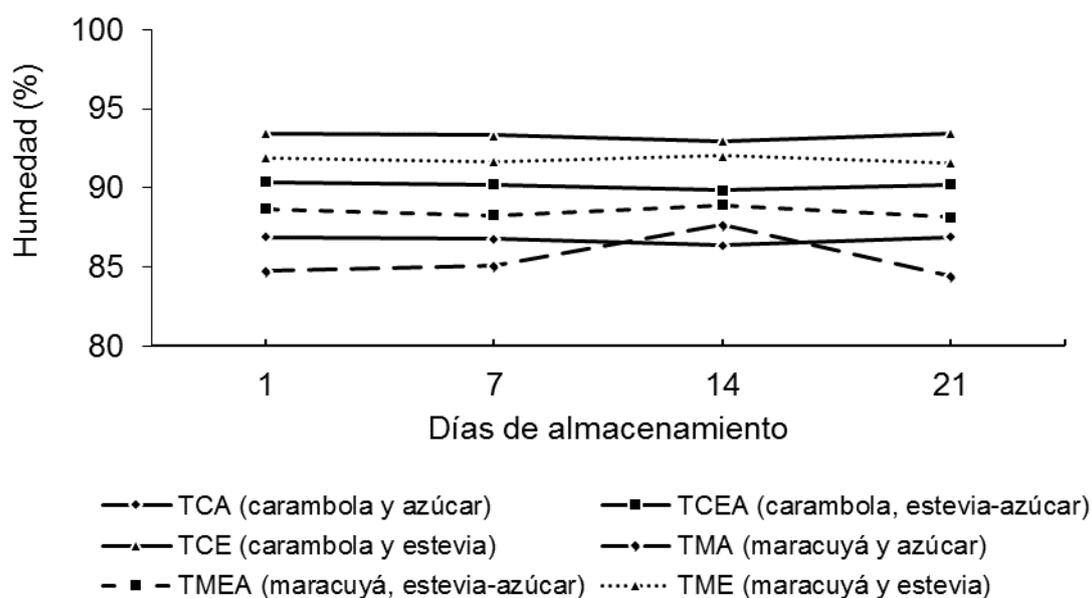


Figura 16. Contenido de Humedad de las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia, durante el periodo de almacenamiento.

El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas del efecto del jugo de fruta ($p \leq 0.0001$) y el edulcorante ($p \leq 0.0001$), así como las interacciones entre el jugo y tiempo de almacenamiento ($p \sim 0.0028$), sobre la humedad de las bebidas.

El **Cuadro 20** presenta la evolución de la humedad en el periodo de almacenamiento en función de los componentes de la bebida. La humedad de la bebida con jugo de maracuyá fue 88.59 % y carambola de 90.06 %, comparables a lo que indicó Parra (2015) de 87.99 % de humedad en un yogur con estevia y carambola.

Cuadro 20. Contenido de humedad (%) de las bebidas de lactosuero en función del jugo, edulcorante y periodo de almacenamiento.

tiempo	Jugo de fruta		Edulcorante		
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	88.44 ^b	90.25 ^a	85.82 ^d	89.52 ^b	92.69 ^a
7	88.35 ^b	90.11 ^a	85.93 ^d	89.25 ^b	92.51 ^a
14	89.54 ^a	89.73 ^a	87.03 ^c	89.38 ^b	92.51 ^a
21	88.06 ^b	90.17 ^a	85.66 ^d	89.17 ^b	92.52 ^a
MSE	0.2645	0.2645	0.3239	0.3239	0.3239

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.3 pH

Las bebidas de lactosuero con jugo de carambola tuvieron un pH de 4.81 y con jugo de maracuyá de 3.60; esta diferencia significativa de pH está directamente relacionada con el pH del jugo (carambola 3.01 y maracuyá 2.85), dada la concentración de ácidos orgánicos como cítrico, ascórbico, entre otros.

El edulcorante también tuvo efecto en el pH de las bebidas, dado que la estevia se incorporó en extracto acuoso con pH 5.37, por lo que provocó un aumento (**Figura 17**).

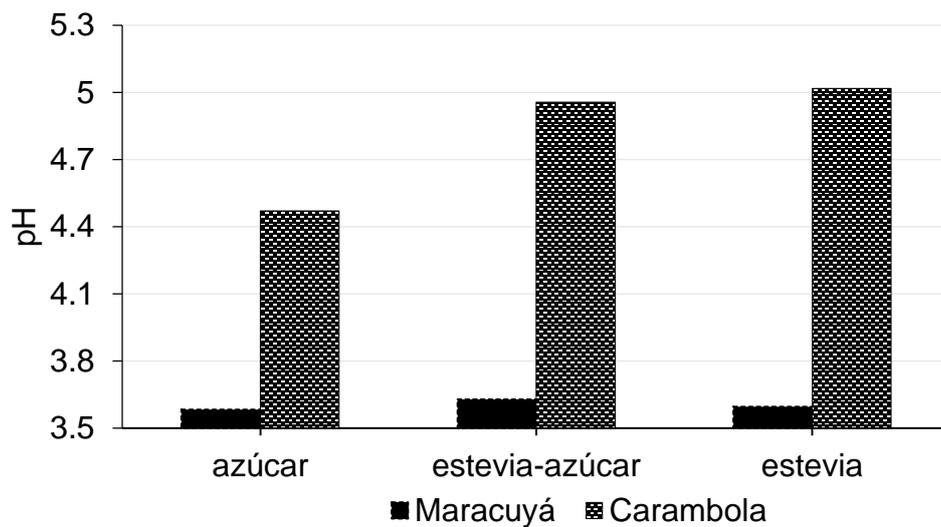


Figura 17. Variación del pH de las bebidas de lactosuero con jugo de carambola y maracuyá en relación al tipo de edulcorante.

El pH de las bebidas es el resultado de la interacción del pH del lactosuero, el jugo de carambola o maracuyá y el edulcorante, el cual desciende ligeramente durante el periodo de almacenamiento por la acción del microorganismo. El pH de las bebidas disminuyó ligeramente a través del tiempo de almacenamiento; el pH más ácido lo presentan las bebidas de maracuyá (**Figura 18**).

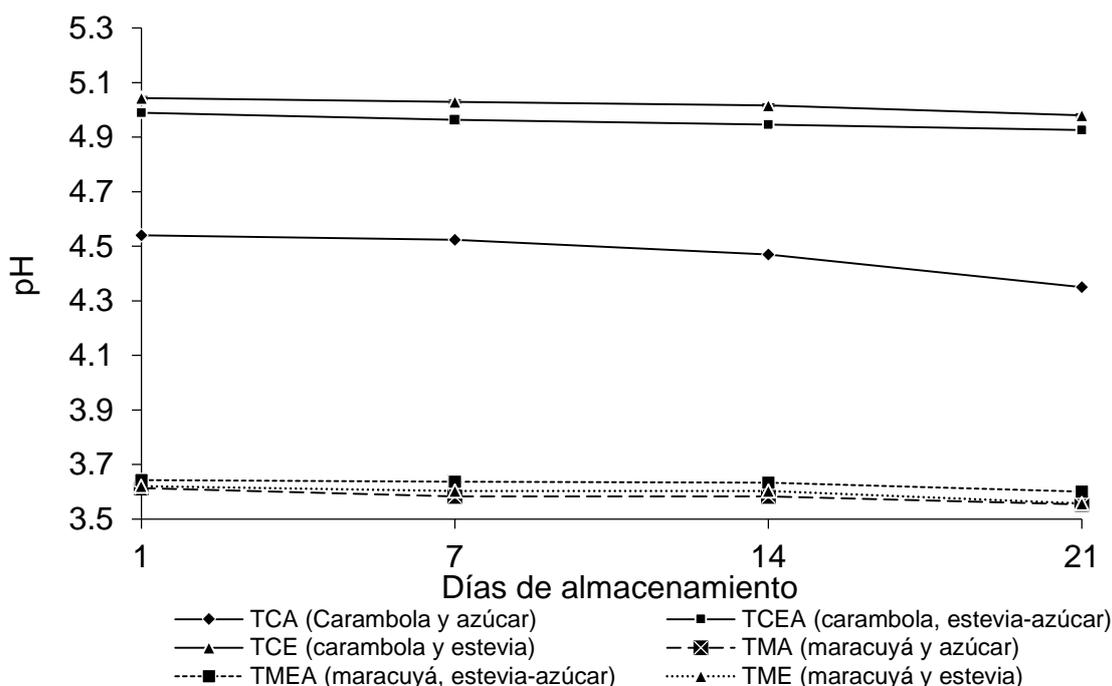


Figura 18. Comportamiento del pH en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia durante 21 días de almacenamiento.

El efecto de los componentes de la bebida de lactosuero sobre el pH mostraron diferencias altamente significativas (**Cuadro 21**), el jugo ($p \leq 0.0001$), el edulcorante ($p \leq 0.0001$), el periodo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$); y las interacciones jugo-edulcorante ($p \leq 0.0001$), edulcorante-jugo-almacenamiento ($p \leq 0.0001$), jugo-edulcorante-almacenamiento ($p \leq 0.0001$).

Cuadro 21. Efecto de los componentes de la bebida de lactosuero y el tiempo de almacenamiento sobre el pH.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	3.63 ^e	4.86 ^a	4.08 ^f	4.32 ^b	4.33 ^a
7	3.61 ^f	4.84 ^b	4.05 ^g	4.30 ^c	4.32 ^b
14	3.61 ^f	4.81 ^c	4.03 ^h	4.29 ^d	4.31 ^b
21	3.57 ^g	4.75 ^d	3.95 ⁱ	4.26 ^e	4.27 ^e
MSE	0.0019	0.0019	0.0024	0.0024	0.0024

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

El pH de la bebida de lactosuero con maracuyá endulzada con azúcar es comparable a lo reportado por Londoño *et al.* (2008) de 3.73 (día 1) a 3.51 (día 21).

Parra (2015) evaluó un yogur con carambola, estevia e inulina, y reportó pH de 4.22 (día 1) a 3.57 (día 22). Como es mostrado, el pH de las bebidas fermentadas está en función de sus componentes añadidos, lactosuero, jugo, edulcorante, cantidad y calidad del cultivo láctico, temperatura y tiempo de incubación, condiciones y periodo de almacenamiento (Sepúlveda *et al.*, 2002).

7.2.4 Acidez

La acidez sensorial no está correlacionada directamente con el pH de un producto elaborado industrialmente, por ejemplo, una fruta puede sentirse poco ácida y tener un pH bajo y viceversa; esto depende de la capacidad buffer (tamponizante) de la pulpa a un pH bajo y de la combinación de ácidos presentes en el producto. De ahí la importancia de determinar el porcentaje de acidez en una fruta, con la posibilidad de que el ácido mayoritario no sea el cítrico (Villalba *et al.*, 2006).

El jugo y el edulcorante tuvieron influencia en la acidez de la bebida de lactosuero (**Figura 19**); aquellas con jugo de maracuyá mostraron los valores más altos con los tres tipos de edulcorante; la combinación estevia-azúcar presentó el porcentaje más bajo.

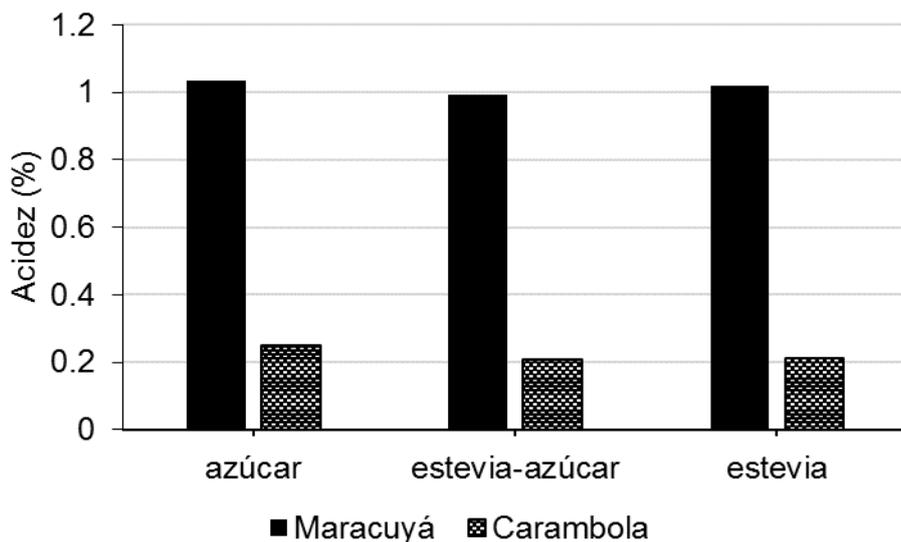


Figura 19. Acidez de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.

La acidez aumentó en el periodo de almacenamiento, las bebidas de lactosuero endulzadas con azúcar mostraron una acidez ligeramente superior (**Figura 20**). El aumento de la acidez en bebidas fermentadas está relacionada con la fermentación de la lactosa a ácido láctico por las bacterias ácido-lácticas (Leite *et al.*, 2013).

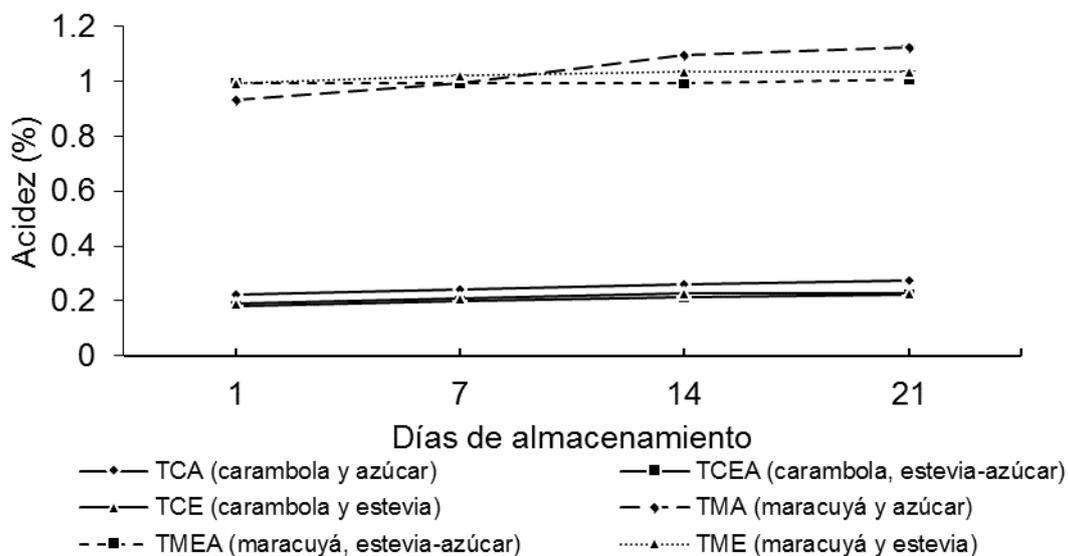


Figura 20. Variación de la acidez en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y extracto de estevia, durante el almacenamiento.

Las interacciones de los componentes de la bebida de lactosuero determinan su acidez (**Cuadro 22**). El jugo de fruta y el edulcorante influyeron significativamente ($p \leq 0.0001$), así como el periodo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$); el edulcorante y el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$). La acidez de las bebidas con maracuyá fue de 1.02 % y con carambola de 0.22 %, las primeras con gran influencia de la acidez del jugo de 3.56 %.

Cuadro 22. Efecto de los componentes de la bebida de lactosuero y el tiempo de almacenamiento sobre el porcentaje de acidez.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo		Edulcorante		
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	0.97 ^d	0.20 ^g	0.58 ^g	0.59 ^{gf}	0.59 ^{gf}
7	1.00 ^c	0.22 ^f	0.62 ^d	0.60 ^{ef}	0.61 ^d
14	1.04 ^b	0.24 ^e	0.68 ^b	0.60 ^{ed}	0.63 ^c
21	1.06 ^a	0.24 ^e	0.70 ^a	0.62 ^d	0.63 ^c
MSE	0.0036	0.0036	0.0044	0.0044	0.0044

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

La acidez titulable de estas las bebidas de lactosuero fue comparable a la reportada por Londoño *et al.* (2008) para una bebida de maracuyá, de 0.81%(día 1) a 0.90% (día 21). Parra (2015) registró valores de 0.65% (día 1) a 0.75% (día 22) en yogur de carambola.

7.2.5 Sólidos solubles (°Brix)

Los sólidos solubles (SS) de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá fue de 11.02%, con jugo de carambola fue de 8.86%. Esta concentración depende de los SS que posee el fruto, ya que son considerados como un índice de madurez, indican principalmente el contenido de azúcar (Benkeblia *et al.*, 2011).

La **Figura 21** presenta la influencia del tipo de edulcorante en los SS de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá y carambola. Las endulzadas con azúcar aumentan significativamente los SS.

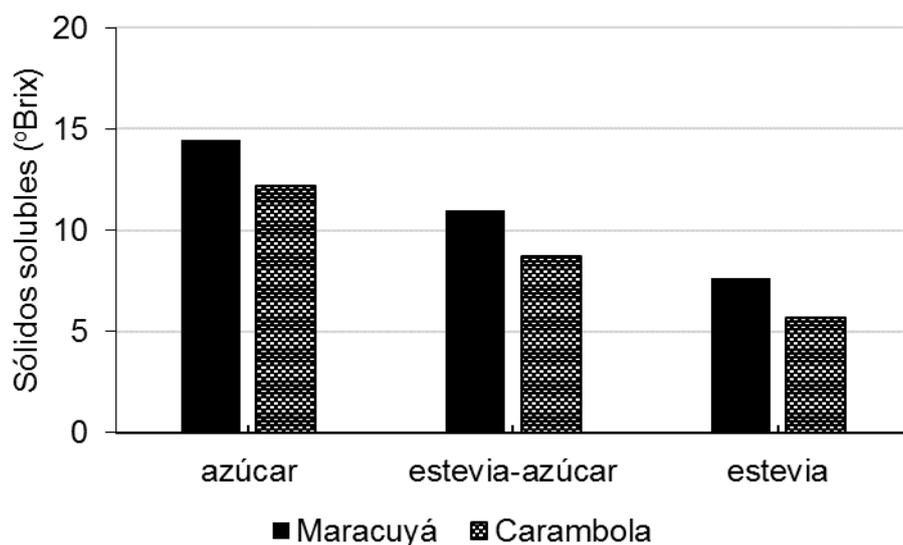


Figura 21. Efecto del edulcorante en la concentración de sólidos solubles en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá y carambola.

Los SS disminuyeron el día 7 de almacenamiento, y aumentaron gradualmente al final del periodo (**Figura 22**), posiblemente por la hidrólisis de los polisacáridos en monosacáridos y oligosacáridos (Kausar *et al.*, 2012).

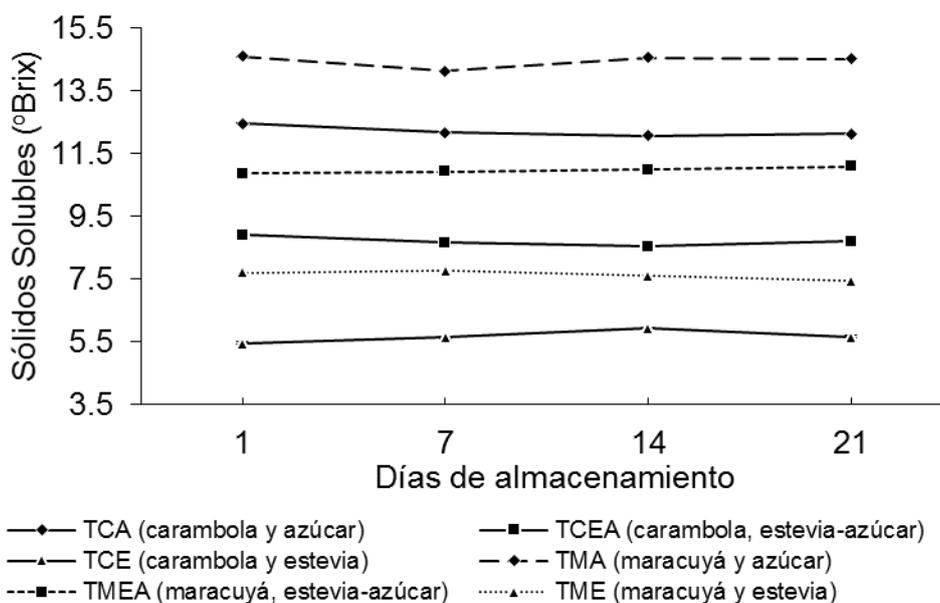


Figura 22. Variación de los sólidos solubles (°Brix) en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia durante 21 días de almacenamiento.

Los sólidos solubles se ven influenciados por la triple interacción, jugo de fruta (carambola y maracuyá), tipo de edulcorante y periodo de almacenamiento.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas del efecto jugo de fruta, tipo de edulcorante y tiempo de almacenamiento sobre los SS ($p \leq 0.0001$) (**Cuadro 23**).

El periodo de almacenamiento influyó significativamente en los SS, así como en el jugo ($p \sim 0.0284$) y edulcorante ($p \leq 0.0001$).

Cuadro 23. Influencia de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre los sólidos solubles (%) en función del tiempo de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo de fruta		Edulcorante		
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	11.06 ^a	8.94 ^c	13.53 ^a	9.88 ^d	6.58 ^h
7	10.94 ^b	8.82 ^d	13.15 ^c	9.80 ^e	6.70 ^g
14	11.06 ^a	8.86 ^d	13.32 ^b	9.78 ^e	6.77 ^f
21	11.03 ^a	8.83 ^d	13.33 ^b	9.90 ^d	6.57 ^h
MSE	0.0188	0.0188	0.0230	0.0230	0.0230

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Las bebidas con azúcar tuvieron mayor concentración de SS. Estos valores son comparables a los reportados por Londoño (2008) en una bebida de maracuyá de 14.10 % de SS en el día 1, y 14.30 % el día 21.

7.2.6 Lactosa

El contenido de lactosa depende de su concentración en el lactosuero; sin embargo, se observó el jugo de fruta y el tipo de edulcorante tienen un efecto en dicha concentración en las bebidas (**Figura 23**).

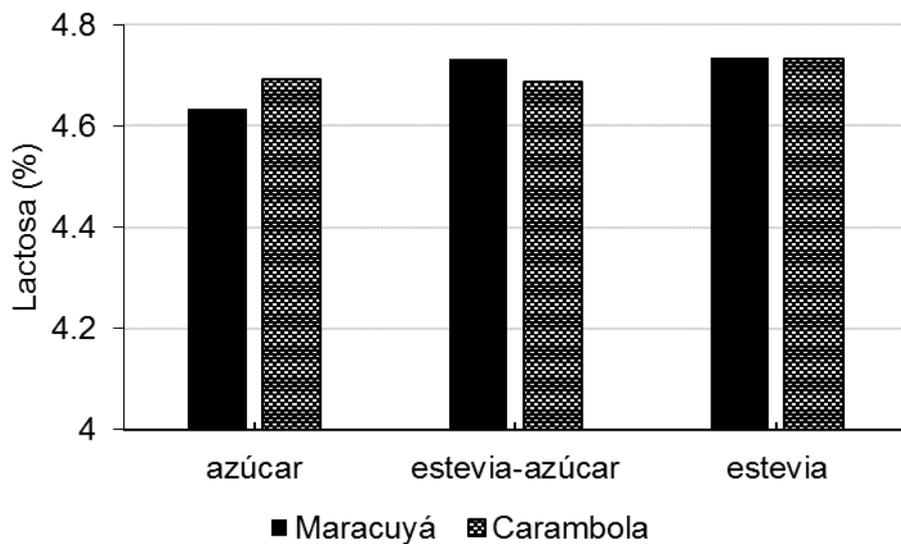


Figura 23. Contenido de lactosa en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, en función del tipo de edulcorante.

Las bebidas tuvieron una disminución progresiva en el contenido de lactosa durante el periodo de almacenamiento, resultado de la acción del probiótico (**Figura 24**). Resultados similares fueron reportados en una bebida de maracuyá por Londoño *et al.* (2008) cuyo contenido de lactosa disminuyó gradualmente de 4.40% (día 1) a 4.30% (día 21).

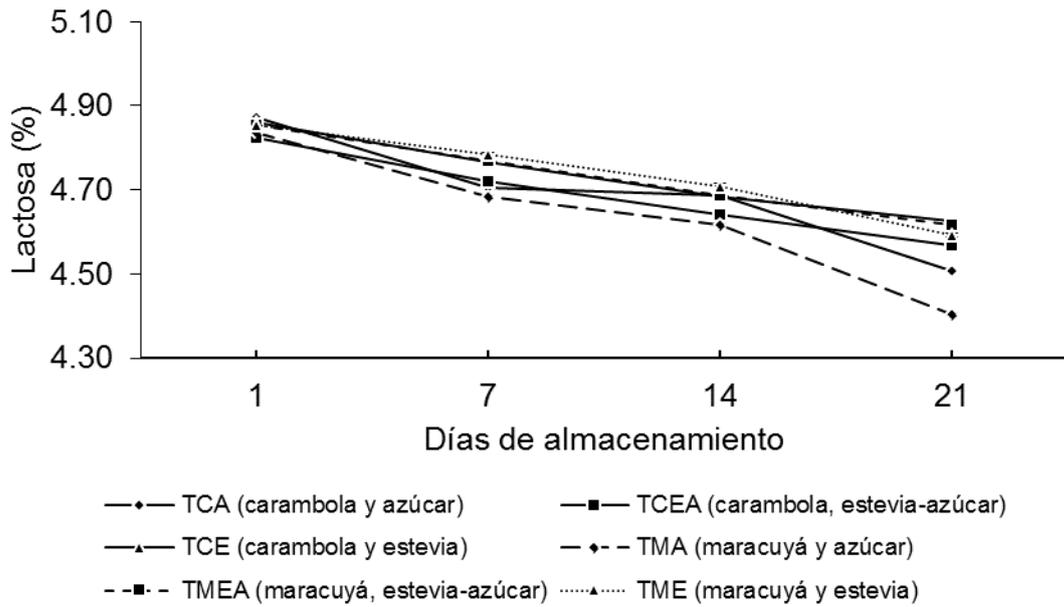


Figura 24. Contenido de lactosa en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia durante el tiempo de almacenamiento.

No existieron diferencias significativas en el contenido de lactosa en función del jugo de fruta. Fue significativamente diferente respecto al tipo de edulcorante, el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$), las interacciones entre edulcorante y periodo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$), jugo de fruta y tiempo ($p \sim 0.0100$), y jugo de fruta, tipo de edulcorante y periodo de almacenamiento ($p \sim 0.0478$) (**Cuadro 24**).

Cuadro 24. Influencia de los componentes de las bebidas de lactosuero sobre la concentración de lactosa (%) durante 21 días de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	4.85 ^a	4.85 ^a	4.85 ^a	4.84 ^a	4.86 ^a
7	4.75 ^b	4.73 ^b	4.69 ^d	4.75 ^c	4.77 ^b
14	4.67 ^c	4.67 ^c	4.65 ^e	4.66 ^e	4.70 ^d
21	4.54 ^e	4.57 ^d	4.46 ^g	4.59 ^f	4.61 ^f
MSE	0.0062	0.0062	0.0077	0.0077	0.0077

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.7 Cenizas

Las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá endulzadas con estevia, presentaron mayor porcentaje de cenizas, lo que muestra mayor contenido de minerales en esos componentes. La **Figura 25** muestra el contenido de cenizas en las bebidas de lactosuero, con diferencias significativas en la interacción jugo de fruta-edulcorante ($p \sim 0.0003$).

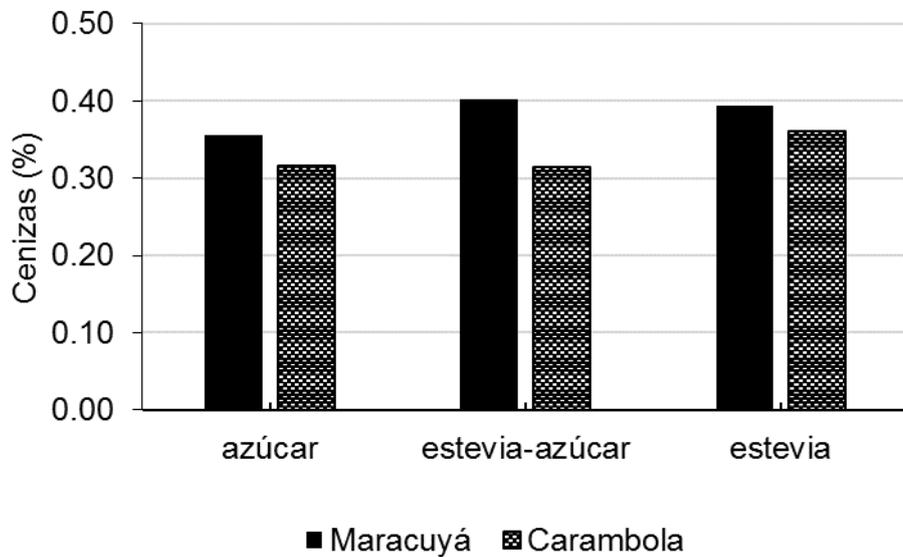


Figura 25. Contenido de cenizas (%) de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola de acuerdo al tipo de edulcorante.

En la **Figura 26** se presenta el comportamiento del contenido de cenizas en las bebidas de lactosuero en función del tiempo de almacenamiento.

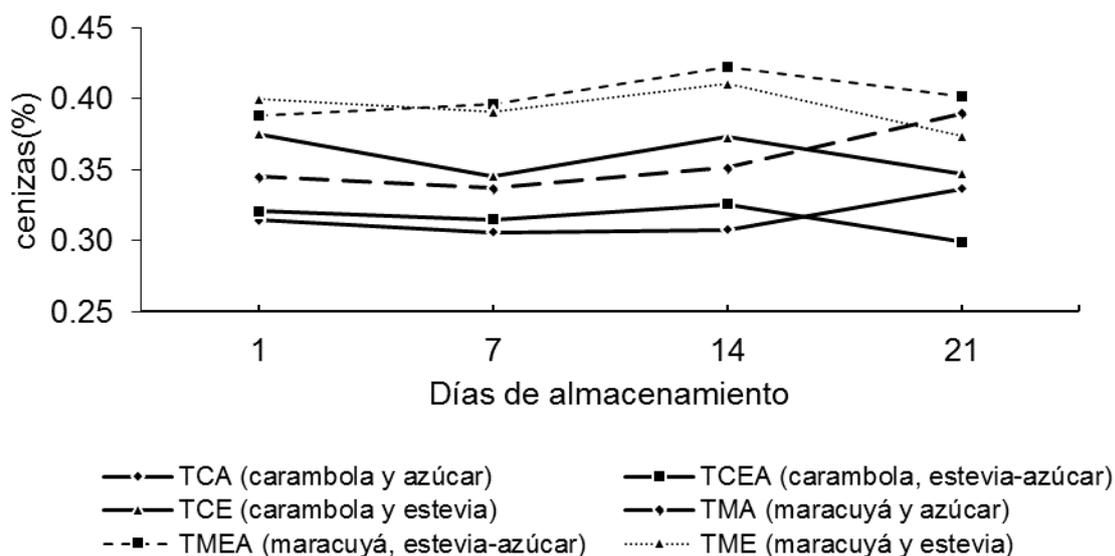


Figura 26. Contenido de cenizas en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia, de acuerdo al periodo de almacenamiento.

No hubo diferencias estadísticas significativas, entre el efecto del jugo, tipo de edulcorante y periodo de almacenamiento en las bebidas de lactosuero. Un patrón similar reportaron Londoño *et al.* (2008) en el contenido de cenizas de una bebida de maracuyá de 0.50 % en el día 1, a 0.45% en el día 21.

El análisis de varianza mostró diferencia estadística significativa en el efecto del jugo ($p < 0.0001$), el contenido de cenizas de la bebida de lactosuero con carambola fue 0.33 % y con maracuyá 0.38%, resultado de la concentración de minerales en los componentes, y del tipo de alimentación del animal del cual proviene el suero de leche (Sepúlveda *et al.*, 2002). También hubo diferencia significativa respecto al tipo de edulcorante ($p < 0.0001$).

El **Cuadro 25** muestra la influencia del edulcorante y tiempo de almacenamiento ($p \sim 0.0134$) en la bebida. No hubo diferencia significativa en el efecto del jugo y tiempo de almacenamiento.

Cuadro 25. Contenido de cenizas (%) de las bebidas de lactosuero en función de los componentes y el tiempo de almacenamiento.

Tiempo (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	0.38 ^a	0.34 ^b	0.33 ^{ed}	0.35 ^{dc}	0.39 ^{ba}
7	0.37 ^a	0.32 ^b	0.32 ^e	0.36 ^{dc}	0.37 ^{bac}
14	0.39 ^a	0.34 ^b	0.33 ^{ed}	0.37 ^{bac}	0.39 ^a
21	0.39 ^a	0.33 ^b	0.36 ^{bc}	0.35 ^{dc}	0.36 ^c
MSE	0.0076	0.0076	0.0094	0.0094	0.0094

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.8 Calidad microbiológica de las bebidas de lactosuero

La calidad microbiológica de las bebidas de lactosuero se muestra en el **Cuadro 26**. Los conteos de coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp., estuvieron en los límites que establece la Norma Mexicana NMX- F-703-COFOCALEC- 2012 y la norma Ecuatoriana para bebidas de suero INEN 2609:2012.

Cuadro 26. Presencia de microorganismos patógenos en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, y referencia de las normas Mexicana y Ecuatoriana.

Tratamientos	Coliformes totales	<i>Staphylococcus</i> A.	<i>Salmonella</i> S.
TCE	< 3	0	Ausencia
TCEA	0	0	Ausencia
TCA	0	0	Ausencia
TME	< 3	0	Ausencia
TMEA	0	0	Ausencia
TMA	0	0	Ausencia
NMX- F-703-COFOCALEC- 2012	10	<100	Ausencia
NTE INEN 2609(2012)	30 000	< 100	Ausencia

Los valores son expresados como media (n=3)

El conteo de bacterias ácido lácticas viables en la bebida de lactosuero fermentada por semana de almacenamiento, se muestra en el **Cuadro 27**. En promedio, el número de bacterias viables se mantuvo en 10^7 UFC/mL durante el periodo de almacenamiento, lo cual cumple con lo establecido en las normas para un producto lácteo fermentado. La viabilidad del probiótico se observó al microscopio (**Figura 27**).

Cuadro 27. Conteo de *Lactobacillus casei* en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola endulzadas con estevia durante 21 días de almacenamiento.

Tratamientos	Recuento MRS (UFC/mL)			
	Día 1	Día 7	Día 14	Día 21
TCE	$7.40 \cdot 10^7$	$5.53 \cdot 10^7$	$2.73 \cdot 10^7$	$1.16 \cdot 10^7$
TCEA	$9.90 \cdot 10^7$	$7.67 \cdot 10^7$	$5.23 \cdot 10^7$	$1.41 \cdot 10^7$
TCA	$2.89 \cdot 10^8$	$2.22 \cdot 10^8$	$1.75 \cdot 10^8$	$1.84 \cdot 10^7$
TME	$5.57 \cdot 10^7$	$4.03 \cdot 10^7$	$2.37 \cdot 10^7$	$1.18 \cdot 10^7$
TMEA	$9.70 \cdot 10^7$	$7.67 \cdot 10^7$	$5.23 \cdot 10^7$	$1.41 \cdot 10^7$
TMA	$2.37 \cdot 10^8$	$1.84 \cdot 10^8$	$9.57 \cdot 10^7$	$1.33 \cdot 10^7$

Los valores son expresados como media (n=3)

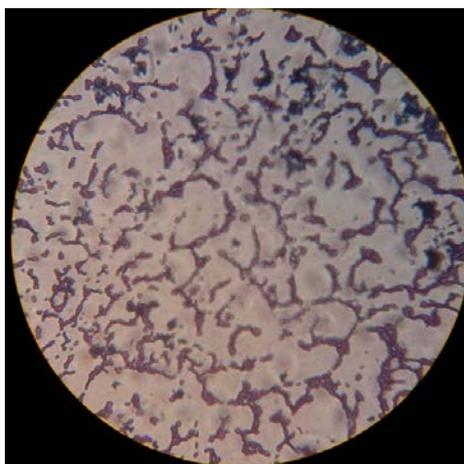


Figura 27. *Lactobacillus casei* en tinción lugol (100x).

La viabilidad del probiótico depende de la disponibilidad de nutrientes, factores de crecimiento e inhibidores, concentración de azúcares (presión osmótica), ácido láctico producido durante la fermentación, oxígeno disuelto y permeación de oxígeno a través del material de envasado, nivel de inoculación, la temperatura de

incubación, tiempo de fermentación y la temperatura de almacenamiento (Shah, 2000). Las variables más relevantes en el proceso de fermentación son: el tipo y cantidad de cultivo iniciador, las características fisicoquímicas de la leche y la temperatura. De acuerdo a estas variables, los microorganismos iniciadores transforman la lactosa y otros carbohidratos en ácido láctico y en otros productos acetaldehído, treonina, piruvato, CO₂, diacetilo, exopolisacáridos, los cuales contribuyen al sabor, la textura y el aroma del producto (Rodríguez *et al.*, 2014).

7.3 Capacidad antioxidante en materias primas y bebidas probióticas

El suero dulce fresco presentó actividad antioxidante, en niveles comparables a los jugos de maracuyá y carambola (**Cuadro 28**), resultado posiblemente a los residuos aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina, triptófano) y los grupos sulfhidrilo libres presentes en la leche cruda (Rahmawati y Suntornsuk, 2016). La vitamina C en el jugo de carambola fue superior a lo reportado por Gheewala *et al.* (2012) de 25.8 mg/100g); los compuestos fenólicos cuantificados en este jugo, fueron más altos a los obtenidos por Bhat *et al.* (2011), de 0.65±0.06 mg EAG/g. La actividad antioxidante en este jugo resulta del alto contenido de polifenoles, principalmente antocianinas (Shui y Leong, 2006).

Cuadro 28. Actividad antioxidante en suero fresco, jugo de carambola y maracuyá, y el extracto de estevia.

Parámetros	Suero fresco	Jugo carambola	Jugo maracuyá	Extracto estevia
Vitamina C (mg/100g)	ND	37.74±0.00	14.15±0.00	ND
DPPH (%)	19.13±0.14	20.68±0.14	17.74±0.19	71.03±0.09
ABTS (%)	34.39±0.24	35.18±0.29	28.61±0.23	96.82±0.36
C. Fenólicos (mg AG/g)	0.79±0.07	0.87±0.06	0.54±0.03	49.61±2.07

Los valores son expresados como media ± desviación estándar (n=3). ND= No determinado.

Los compuestos fenólicos en este jugo de maracuyá son inferiores a los reportados por Vasco *et al.* (2008) de 61±32 mg GAE/100g. La vitamina C es inferior a lo reportado por Zeraik *et al.* (2010) de 22 mg/100g, esto se lo atribuye a los

compuestos fenólicos (32.4 mg EAG/100g), ácido ascórbico (6.96 mg/100g), carotenoides (3.17 mg/100g) y flavonoides (14.20 mg EC/100 g)(Konta *et al.*, 2014). Shukla *et al.* (2012) en un extracto acuoso de hojas de estevia detectaron 56.74 mg AG/g. González-César *et al.* (2014) reportaron de 58.90 a 62.56 mg AG/g en *Stevia rebaudiana* variedad Morita. Ahmad *et al.* (2010) indicaron 77.67 % de inhibición del radical DPPH en extracto metanólico de hojas de estevia.

7.3.1 DPPH

El efecto del jugo de fruta, tipo de edulcorante y tiempo de almacenamiento sobre la inhibición del radical DPPH de la bebida de lactosuero muestra diferencias altamente significativas ($p \leq 0.0001$). La capacidad antioxidante de una mezcla no es la suma de las capacidades antioxidantes de cada componente, depende del microambiente en que se encuentra el compuesto (Kuskoski *et al.*, 2005).

La **Figura 28** muestra la capacidad antioxidante DPPH de las bebidas de lactosuero en función al edulcorante; las bebidas con jugo de carambola y estevia presentaron los valores más altos.

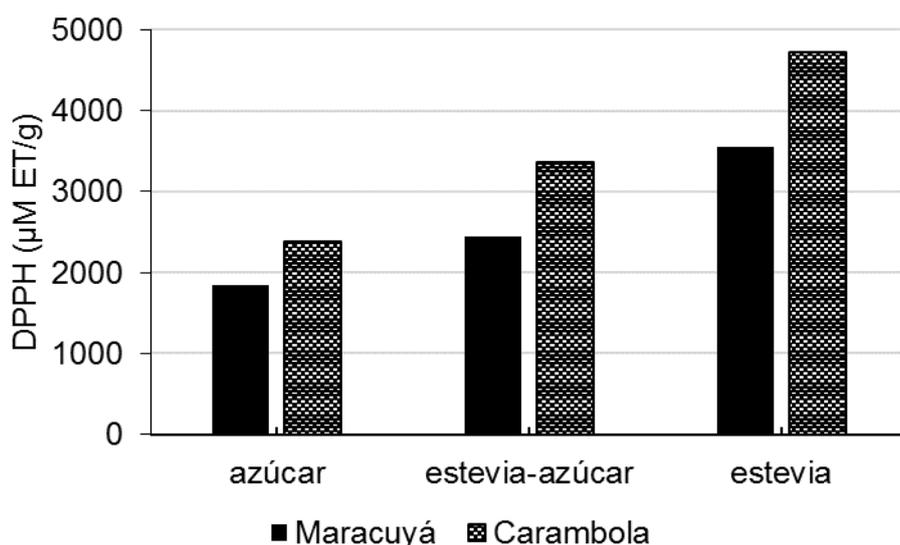


Figura 28. Capacidad antioxidante del radical DPPH de las bebidas de lactosuero en función del jugo de maracuyá o carambola y del edulcorante.

La evolución de la actividad antioxidante del radical DPPH en las bebidas de lactosuero, se muestra en la **Figura 29**.

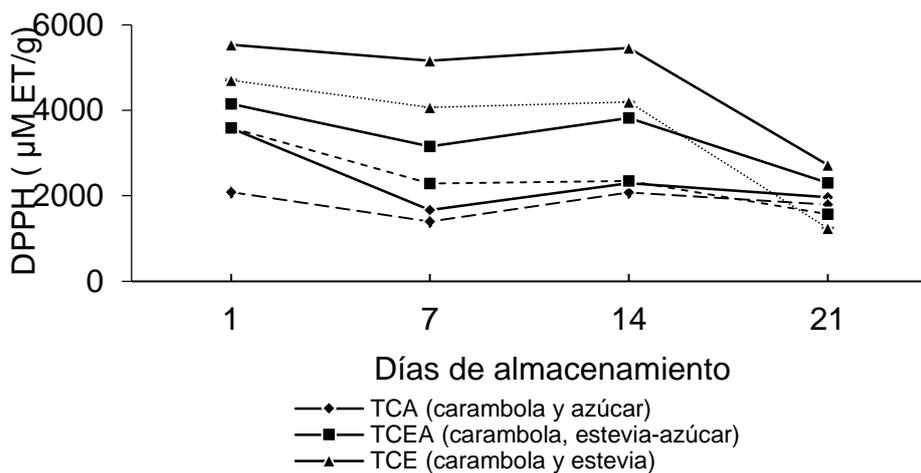


Figura 29. Capacidad antioxidante DPPH de las bebidas de lactosuero con jugo de carambola o maracuyá y estevia, en función tiempo de almacenamiento.

Las bebidas de lactosuero con estevia presentaron una capacidad antioxidante superior a las endulzadas con azúcar, debido a que el extracto de hojas de estevia tuvieron actividad antioxidante, la cual puede ser utilizada como una fuente accesible de antioxidantes naturales con beneficios para la salud (Kim *et al.*, 2011). Dicha actividad disminuye el día 7 y aumenta ligeramente el día 14. Resultados similares reportaron Sánchez *et al.* (2013) en bebidas fermentadas con extracto de curuba (*Passiflora mollissima Bailey*) y suero de leche.

Estas bebidas conservan las funciones bioactivas durante su almacenamiento en refrigeración, además proporcionan energía y nutrientes, siendo fuentes excelentes de péptidos bioactivos y que sirven como un alimento funcional (Rahmawati y Suntornsukn, 2016).

El efecto del jugo, el edulcorante y tiempo de almacenamiento sobre la actividad antioxidante de la bebida de lactosuero se muestra en el **Cuadro 29**. Las bebidas de lactosuero con jugo de carambola presentaron una actividad antioxidante promedio de 3483.67 $\mu\text{M ET/g}$, y las de maracuyá de 2612.07 $\mu\text{M ET/g}$ muestra.

Cuadro 29. Capacidad antioxidante del radical DPPH ($\mu\text{M ET/g}$ muestra) de bebidas de lactosuero en función de los componentes y tiempo de almacenamiento.

Tiempo (día)	Jugo de fruta		Edulcorante		
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia- azúcar	estevia
1	3459.81 ^c	4419.78 ^a	2832.57 ^f	3868.42 ^d	5118.38 ^a
7	2581.86 ^f	3328.22 ^d	1531.08 ^k	2719.42 ^g	4614.62 ^c
14	2872.49 ^e	3857.90 ^b	2188.02 ^h	3082.71 ^e	4824.85 ^b
21	1534.12 ^h	2328.77 ^g	1880.20 ^j	1934.74 ⁱ	1979.39 ⁱ
MSE	20.22	20.22	24.76	24.76	24.76

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.3.2 ABTS

La actividad antioxidante ABTS de las bebidas de lactosuero, en función del edulcorante, se muestra en la siguiente **Figura 30**, con diferencias significativas en la interacción de los componentes ($p \leq 0.0001$).

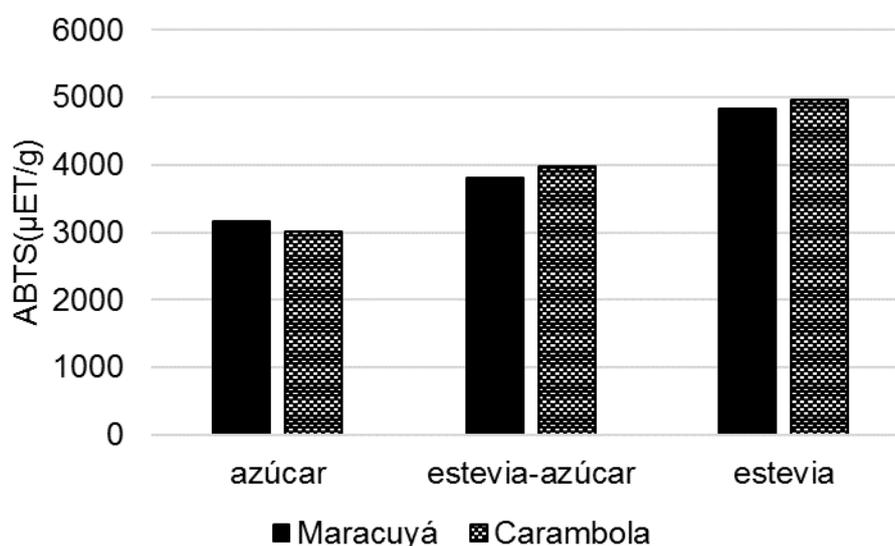


Figura 30. Capacidad antioxidante del radical ABTS de bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia.

La capacidad antioxidante del radical ABTS de las bebidas de lactosuero en función del tiempo de almacenamiento se presenta en la **Figura 31**.

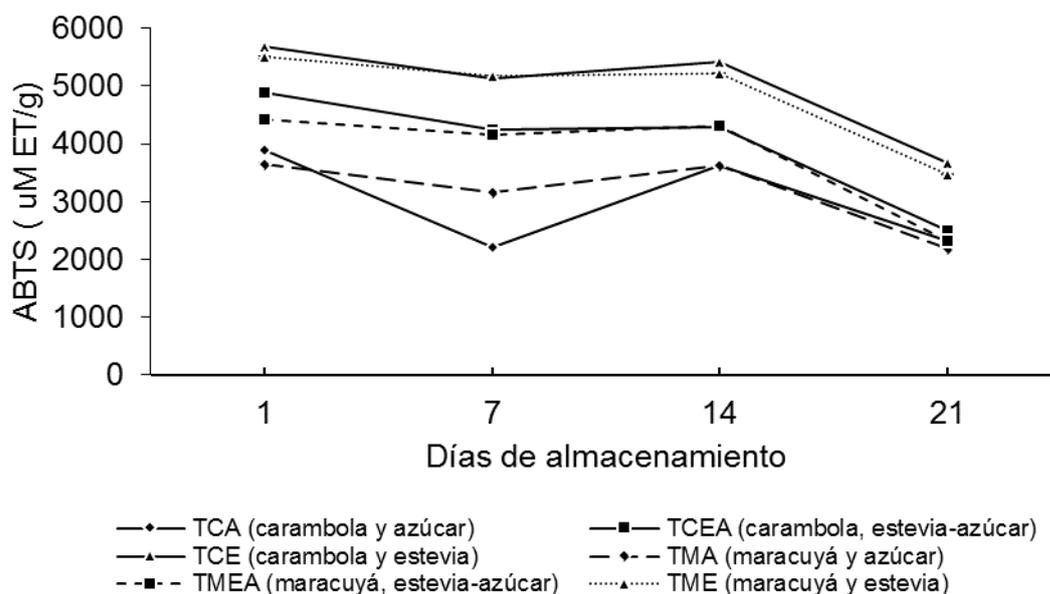


Figura 31. Capacidad antioxidante del radical ABTS en las bebidas de lactosuero y jugo de maracuyá o carambola y estevia durante 21 días de almacenamiento.

Existieron diferencias altamente significativas entre el efecto del jugo de fruta, el edulcorante y tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.0001$) en la actividad antioxidante de las bebidas de lactosuero. Así como en las interacciones jugo de fruta-tiempo de almacenamiento, edulcorante-tiempo de almacenamiento (**Cuadro 30**). La actividad más alta la mostraron las bebidas con jugo de carambola y estevia.

Cuadro 30. Capacidad antioxidante del radical ABTS ($\mu\text{M ET/g}$ muestra) de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, en función del periodo de almacenamiento.

Tiempo (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia-azúcar	estevia
1	4522.16 ^b	4818.76 ^a	3778.44 ^g	4648.79 ^d	5584.15 ^a
7	4161.31 ^e	3858.37 ^f	2681.59 ⁱ	4198.03 ^f	5149.91 ^c
14	4379.87 ^d	4446.26 ^c	3623.72 ^h	4301.61 ^e	5313.86 ^b
21	2663.35 ^h	2831.14 ^g	2254.04 ^k	2414.78 ^j	3572.92 ^h
MSE	18.15	18.15	22.23	22.23	22.23

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Existen diferencias en los resultados obtenidos a través de los métodos DPPH y ABTS. El radical DPPH• es más selectivo que el ABTS•, no reacciona con los flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo β , ni con ácidos aromáticos que

contengan un solo grupo hidroxilo (Roginsky y Lissi, 2005). La comparación de resultados entre investigaciones tiene diversas limitantes, por los factores que influyen y las condiciones de trabajo (reactivos, cantidad y manejo de muestra, entre otros). Sin embargo, las bebidas poseen antioxidantes, capaces de retardar el proceso de la rancidez y aumentar la vida útil (Shui y Leong, 2006).

7. 3.3 Compuestos fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos en las bebidas de lactosuero en función del tipo de edulcorante se muestra en la **Figura 32**.

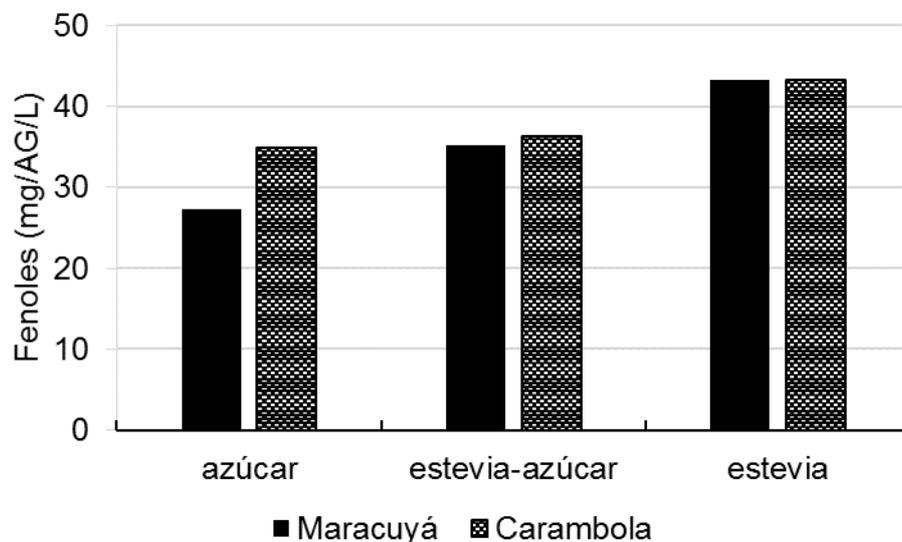


Figura 32. Contenido de fenoles totales en las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola en función del edulcorante.

Los compuestos fenólicos totales en las bebidas de lactosuero con jugo de carambola fueron de 38.14 mg AG/L, superiores a las bebidas con jugo de maracuyá de 35.29 mg AG/L, con diferencias estadísticamente significativas (**Figura 33**). La concentración no es constante durante el periodo de almacenamiento, posiblemente por la formación-degradación de compuestos fenólicos poliméricos por bacterias de ácido láctico (Dalling, 1986; citado por Shori y Baba, 2011).

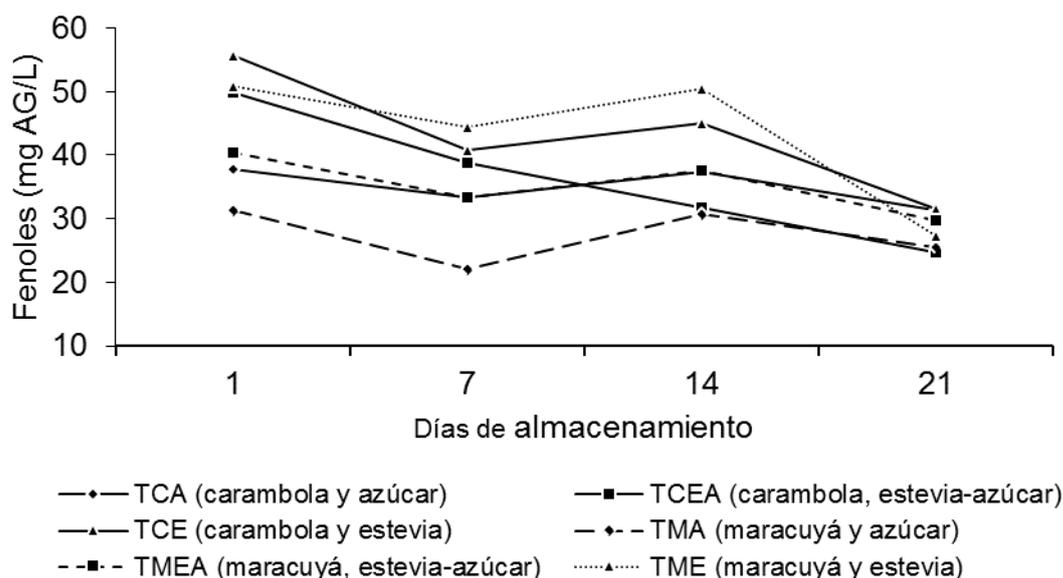


Figura 33. Contenido de fenoles totales en bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola y estevia, durante 21 días de almacenamiento.

Los compuestos fenólicos de las bebidas de lactosuero presentan diferencias altamente significativas ($p \leq 0.0001$), resultado de diversos factores, como el método de extracción empleado, el tamaño de partícula de la muestra, tiempo y condiciones de almacenamiento, el método de ensayo, presencia de sustancias que interfieren: ceras, grasas, terpenos y clorofilas (Naczki y Shahidi, 2006). El **Cuadro 31** muestra la interacción de los componentes de las bebidas de lactosuero y tiempo de almacenamiento, sobre los fenoles totales.

Cuadro 31. Fenoles totales (mg AG/L) en las bebidas de lactosuero en función de sus componentes y tiempo de almacenamiento.

Tiempo (día)	Jugo de fruta			Edulcorante	
	maracuyá	carambola	azúcar	estevia- azúcar	estevia
1	40.82 ^b	47.82 ^a	34.55 ^d	45.18 ^{cb}	53.23 ^a
7	33.26 ^d	37.57 ^c	27.65 ^e	35.99 ^d	42.60 ^c
14	39.58 ^{cb}	38.05 ^c	33.97 ^d	34.69 ^d	47.77 ^b
21	27.51 ^e	29.14 ^e	28.37 ^e	27.22 ^e	29.38 ^e
MSE	0.81	0.81	0.99	0.99	0.99

MSE=Cuadrados medios del error, letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

7.4 Aceptabilidad de las bebidas de lactosuero

Las bebidas fueron evaluadas por 144 panelistas no entrenados, de los cuales 96 mujeres y 48 hombres, de edades entre 17 y 56 años, residencia en Córdoba (26%), Orizaba (23%) principalmente, de Fortín (5%), Naranjal (5%), Mendoza (4%), Ixtac (4%) y los restantes de municipios aledaños.

La **Figura 34** muestra la aceptabilidad de las 6 bebidas de lactosuero. La bebida de maracuyá con azúcar fue la más aceptada, con una calificación de 7.03, en una escala hedónica de 9 niveles. No hubo diferencia significativa entre la aceptabilidad de las bebidas con azúcar y con la mezcla azúcar-estevia. Las bebidas endulzadas con extracto de estevia fueron las menos apreciadas.

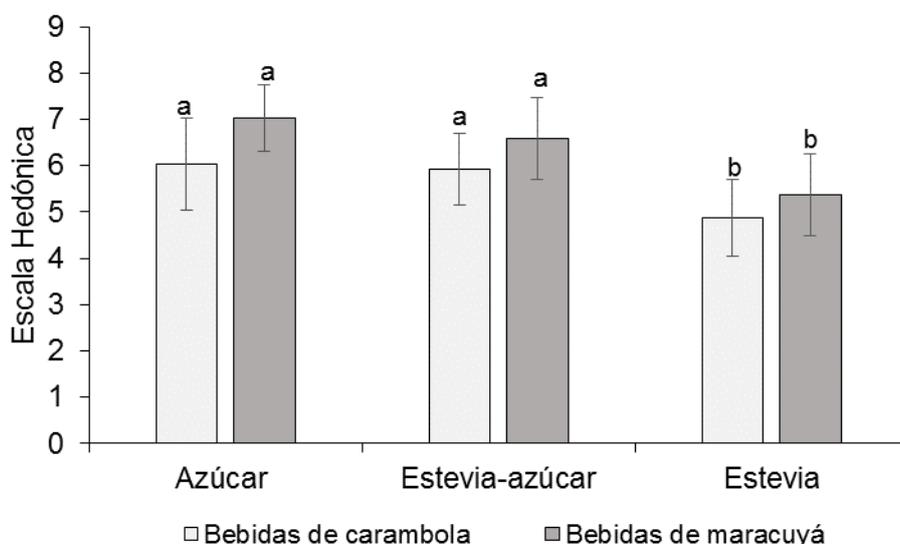


Figura 34. Apreciación de las bebidas de lactosuero con jugo de maracuyá o carambola, endulzadas con estevia de acuerdo a una escala hedónica.

La mezcla de los dos edulcorantes (azúcar y estevia) mejora la aceptación de las bebidas de lactosuero. Las bebidas con jugo de maracuyá fueron las más apreciadas, posiblemente por el sabor y aroma más fuertes, que permiten cubrir el sabor del suero, contrario al jugo de carambola.

Los panelistas indicaron que las bebidas con jugo de maracuyá endulzadas con sacarosa, tenía un sabor agradable al paladar, 75% compraría el producto por su

valor nutricional. La intención de compra aumenta cuando se da información adicional sobre la calidad nutritiva del producto (**Cuadro 32**).

Cuadro 32. Aceptación e intención de compra de las bebidas de lactosuero con jugo de carambola y maracuyá.

Bebida	Aceptación	Intención de compra	Compraría si
Carambola y azúcar	No= 14	No= 35	No= 15
	Si= 58	Si= 37	Si= 57
Carambola, estevia/azúcar	No= 11	No= 42	No= 16
	Si= 61	Si= 30	Si= 56
Carambola y estevia	No= 38	No= 60	No= 34
	Si= 34	Si= 12	Si= 38
Maracuyá y azúcar	No= 6	No= 17	No= 9
	Si= 66	Si= 55	Si= 63
Maracuyá, estevia/azúcar	No= 11	No= 23	No= 9
	Si= 61	Si= 49	Si= 63
Maracuyá y estevia	No= 30	No= 49	No= 26
	Si= 42	Si= 23	Si= 46

La adición de estevia en lugar de azúcar (hasta 25 mg) disminuye el contenido calórico de algunos productos lácteos dulces, sin cambiar su aceptabilidad general (Agarwal *et al.*, 2010). La dulzura del producto es una característica altamente apreciada, relacionada con los hábitos del consumidor (Djurić *et al.*, 2004). La mezcla de los dos edulcorantes (azúcar y estevia) mejora la aceptabilidad de las bebidas de suero de leche.

VIII. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran el potencial de uso del lactosuero en la elaboración de bebidas nutritivas, con una aceptabilidad importante por adultos jóvenes. Las características organolépticas de estas bebidas pueden mejorarse con el incremento del porcentaje de jugo, una mezcla de edulcorantes, entre otras posibilidades.

El proceso de elaboración de las bebidas de lactosuero desarrollado, es sencillo, por lo que puede transferirse a las comunidades productoras de queso jarocho artesanal y otros quesos frescos.

Podemos afirmar después de la elaboración de estas bebidas a partir de lactosuero, que se obtuvo un producto de buena calidad nutritiva, inocuo, aceptado por un estrato joven de la población, con características probióticas y potencial de compra para colocarse en el mercado. Así también una buena actividad antioxidante.

IX. RECOMENDACIONES

Ampliar los estudios de investigación sobre este tipo de bebidas con edulcorantes de bajo aporte calórico, utilizando cereales y diferentes pulpas de frutos no tradicionales para la fortificación de este tipo de bebidas.

Usar mezclas de diferentes estabilizantes y conservadores para alargar la vida útil de las bebidas.

Almacenar las bebidas a 4 °C por al menos 21 días manteniendo la cadena de frío, para evitar la proliferación de microorganismos que afecten su calidad.

Evaluar un periodo más amplio de almacenamiento y los cambios en la calidad nutricional y organoléptica de las bebidas.

Realizar un estudio de mercado para determinar el perfil de los posibles compradores de este tipo de bebidas.

X. LITERATURA CITADA

- Abdullah, L., A. G., Sulaiman, N. M., Aroua, M. K. & Mohd N. M., 2007. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme. *Journal of Food Engineering*, 81: 65-71.
- Abriouel, H., Casado, M. M. D. C., Lavilla, L. L., Pérez, M. B., Bockelmann, W., Pichner, R., Kabisch, J., Cho, G. S., Franz, C. M. A. P., Gálvez, A. & Benomar, N., 2015. New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. *Food Research International*, 78: 465-481.
- Acevedo, C. D. 2010. Gelificación fría de las proteínas del lactosuero. Universidad de Cartagena, Colombia. *Revista ReCiTeIA* 10:6-23.
- Agarwal, V., Kochhar A., & Sachdeva, R., 2010. Sensory and Nutritional Evaluation of Sweet Milk Products Prepared Using Stevia Powder for Diabetics. *Ethno Med.* 4:9-13.
- Ahmad N. Fazal H., Abbasi B. H., Farooq S. Efficient free radical scavenging activity of Ginkgo biloba, Stevia rebaudiana and Parthenium hysterophorous leaves through DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *International Journal of Phytomedicine*, 2: 231-239.
- AOAC, 923.03 (2005). Official method of analysis of AOAC international, Association of Official Analytical Chemists: 18th edition (32), pp 2.
- Arazo, M., Casales, Y., Duarte, C., & Hernández, A., 2010. Evaluación de estabilizadores para la elaboración de una bebida fermentada de suero. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 20: 17-22.
- Arnao, M. B., Cano, A. & Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73: 239-244
- Aular, J. & Rodríguez Y., 2003. Algunas características físicas y químicas del fruto de cuatro especies de *passiflora*. *Bioagro*, 15: 41-46.
- Ávila, De H., R. M. & González T., C. C. 2011. La evaluación sensorial de bebidas a base de fruta: una aproximación difusa. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 15, 171-182.
- Aydin, F. & Çakmakçı, S., 2014. Possibilities for the use of whey in tel kadayif (a Turkish dessert) production. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38: 250-257.
- Baccouche, A., Ennouri, M., Felfoul, I. & Attia, H., 2013. A physical stability study of whey-based prickly pear beverages. *Food Hydrocolloids*, 33: 234-244.

- Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.
- Baro, L. J. Martínez, F. A., & Bouza J.J., 2001. Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales. *Ars Pharmaceutica*, 42: 135-145.
- Bhat, R., Ameran, S. B., Voon, H. C., Karim, A. A., & Tze, L. M., 2011. Quality attributes of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) juice treated with ultraviolet radiation. *Food Chemistry*, 127: 641-644.
- Beecher, J. W., Drake, M. A., Luck, P. J. & Foegeding, E. A. 2008. Factors Regulating Astringency of Whey Protein Beverages. *Journal of Dairy Science*, 91: 2553-2560.
- Belén C., Cedeño C., López I., Moreno M., García D., & Medina C., 2011. Características fisicoquímicas y propiedades funcionales de la biomasa residual de la fermentación alcohólica de tamarindo chino (*Averrhoa carambola* L.)
- Bello, J. M., Lizeldi, B. V., González, E., Manzo, A., Nochebuena, X., Ramírez, E. I. Q, & Salinas, C. V., 2005. Productos lácteos: la ruta de la metamorfosis. *Rev. Dig. Univ. UNAM*, 6: 1-14.
- Benkeblia, N., Tennant, D. P. F., Jawandha, S. K. & Gill, P. S., 2011. Preharvest and harvest factors influencing the postharvest quality of tropical and subtropical fruits. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. Woodhead Publishing Limited, Chapter 4: 112-142.
- Bernal, J., Mendiola, J. A., Ibáñez, E. & Cifuentes, A. 2011. Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55: 758-774.
- Boudier, A., Tournebize, J., Bartosz, G., El Hani, S., Bengueddour, R., SAPIN, M. A. & Leroy, P., 2012. High-performance liquid chromatographic method to evaluate the hydrogen atom transfer during reaction between 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical and antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 711: 97-106.
- Brand W. W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28: 25-30.
- Brito H., Santillán A., Areteaga M., Ramos E., Villalón P., & Rincón A., 2015. Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal* 26:257 – 268.
- Callejas, H. J, Prieto, G. F., Reyes, C. V., E. R., Marmolejo S. Y. & Méndez, M. A., 2012. Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de

- recuperación de fósforo. Universidad de Guanajuato, Acta Universitaria, 22: 11-18.
- Calvo C. M. C., & Mendoza M.E., 2012. Toxicología de los alimentos. Editorial Mc Graw Hill. Pp 290 y 291.
- Castro, C. J. M., Rivera, J. C. & Zavaleta, J. A., 2012. Características de la producción y comercialización de leche bovina en sistemas de doble propósito en Dobladero, Veracruz. Revista Mexicana de Agronegocios, 16: 816-824.
- Carvajal de Pavón, L. M., Turbay, S., Rojano, B., Álvarez, L., Restrepo, L., Álvarez, J. M., Bonilla, K. C., Ochoa, C. & Sánchez, N. 2011. Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 16: 354-363.
- Carvajal L. M., Turbay, S., Rojano, B., Álvarez, L., Rodríguez, A., Álvarez, M., Bonilla, K., Restrepo S. & Parra, M., 2014. Propiedades funcionales y nutricionales de seis especies de *passiflora* (passifloraceae) del departamento del Huila, Colombia. Caldasia 36: 1-15.
- Carvalho, F., Prazeres, A. R. & Rivas, J., 2013. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. Science of the Total Environment, 445–446: 385–396.
- Cavalcanti, M., Da Silva, F., Cavalcanti, J., Florentino, E., Florêncio, I. & Moreira, R., 2013. Aplicação da lógica fuzzy na análise sensorial de pão de forma enriquecido. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 17: 208-215
- Chatsudthipong, V. & Muanprasat, C., 2009. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. Pharmacology & Therapeutics, 121: 41-54.
- Chaturvedula, V. S. P. & Prakash, I., 2011. Structures of the novel diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. Carbohydrate Research, 346: 1057-1060.
- Cesin, V. A., Aliphat, F. M., Ramírez, V. B., Herrera, H.J., & Martínez, C. D., 2007. Ganadería lechera familiar y producción de queso. Estudio en tres comunidades del municipio de Tetlatlahuca en el estado de Tlaxcala, México. Tec Pecu Mex; 45: 61-76
- CODEX STANDART 187-1993. Norma del Codex para la carambola. Primera Edición OMS, Roma, 2007:1-204
- CODEX STANDART 192-1995. Norma General para los aditivos alimentarios.
- CODEX STANDART 283-1978. Norma General del Codex para el queso.

- Conti, J. P., Ceriani, M. C., Juliarena, M. A. & Esteban, E. N. 2012. Perfil Proteico y Peptídico de una base Fluida para Bebidas Funcionales obtenida por Fermentación de Lactosuero. *Información tecnológica*, 23: 61-70.
- CRUO- UACh, 2015. Centro Regional Universitario Oriente. Entrevista personal con el dr. Esteban Escamilla Prado. Responsable de Investigación del CENACAFE.
- Dasgupta, P., Chakraborty, P. & Bala, N., 2013. *Averrhoa carambola*: an updated review. *International Journal of Pharma Research & Review*, 2: 54-63.
- Devi, R. S., Sidik B. J., Harah Z. M., Sing K. W., & Shaffiq S. M., 2013. Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *Journal Sci Food Agric*, 93: 1198–1205.
- Dhawan, K., Dhawan, S. & Sharma, A. 2004. *Passiflora*: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 94: 1-23.
- Djurić, M., Carić, M., Milanović, S., Tekić, M. & Panić, M., 2004. Development of whey- based beverages. *Eur. Food Res. Technol.*, 219: 321-328.
- Eberhardt, M. V., Kobira, K., Keck, A.-S., Juvik, J. A. & Jeffery, E. H. 2005. Correlation Analyses of Phytochemical Composition, Chemical, and Cellular Measures of Antioxidant Activity of Broccoli (*Brassica oleracea* L. Var. *italica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7421-7431.
- Espitia C. M., Araméndiz T. H. & Cardona A. C., 2008. Correlaciones para algunas propiedades físicas y químicas del fruto y jugo de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana* 26: 292-299.
- FAO, 2013. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura. Consultado en <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/>
- FAO-OMS, 2001. Informe de la Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos, incluida la Leche en Polvo con Bacterias Vivas del Ácido Láctico. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Córdoba, Argentina, 1-45.
- Faría R. J. F., García U. A., & Hernández de A., 2002. Efecto de la tecnología quesera sobre la composición del suero lácteo. *Multiciencias* 2: 126-130.
- Fernández, E. F., Hernández, J. A. M., Suárez, V. M., Villares, J. M. M., Yurrita, L. R. C., Cabria, M. H. & Rey, F. J. M., 2014. Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición Hospitalaria*, 31: 92-101.

- Franz, C. M. A. P., Huch, M., Mathara, J. M., Abriouel, H., Benomar, N., Reid, G., Galvez, A. & Holzapfel, W. H., 2014. African fermented foods and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 190: 84-96.
- García, G. M., Quintero, R. R. & López, M. A., 1993. *Biotecnología Alimentaria*, Editorial Limusa Noriega. Pág. 201. Consultado en https://books.google.com.mx/books?id=PUm4AgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_atb#v=onepage&q&f=false
- Gheewala, P., Kalaria, P., Chakraborty, M. & Kamath, J., 2012. Phytochemical and Pharmacological profile of *Averrhoa carambola* Linn: An overview. *Int Res J Pharm*, 3: 88-92.
- Gil, Á., 2015. Primera ponencia: Hidratos de carbono, nutrición y salud Ingesta y metabolismo del azúcar en la alimentación diaria. *Revista de la Real Academia de Medicina Catalunya*, 30: 86-93.
- González-César., Tapia M.S., Pérez E., Dornier M. & Morel G., 2014. Caracterización de cultivares de *Stevia rebaudiana* Bertoni de diferentes procedencias. *Bioagro* 26: 79-88.
- González- Chávez, A., 2013. Posición de consenso sobre las bebidas con edulcorantes no calóricos y su relación con la salud. *Revista mexicana de cardiología*, 24: 55-68.
- González-García, S., Castanheira, É. G., Dias, A. C. & Arroja, L., 2013. Environmental performance of a Portuguese mature cheese-making dairy mill. *Journal of Cleaner Production*, 41: 65-73.
- González –Victoria, D., Hernández, S., Herrera, A., Barrera, J., Martínez, O., Paez, D., 2001. Desarrollo del fruto e índices de cosecha de la carambola (*Averrhoa carambola* L.) producida en el Piedemonte Amazónico Colombiano. *Agronomía Colombiana* 18: 7-13.
- González- Villareal, M., 2002. Tecnología para la elaboración de queso blanco, amarillo y yogurt. *Ciencia y Tecnologías de alimentos*. Secretaria Nacional de Ciencias, Tecnología e Innovación. Veraguas, Panamá.
- Gordillo S. C., Guerrero M.N., Izáziga L. N., Laguna P. B., Lázaro, S. M., & Rojas N. J., 2012. Efecto de la proporción de naranja (*Citrus sinensis*), papaya (*Carica papaya*) y piña (*Ananas comosus*) en la aceptabilidad sensorial de un néctar mixto. *Agroindustrial Science* 2: 132-138.
- Guimarães, P. M. R., Teixeira, J. A. & Domingues, L., 2010. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology Advances*, 28: 375-384.
- Gutiérrez, A., Burgos, J. A. & Moltó, E., 2007. Pre-commercial sorting line for peaches firmness assessment. *Journal of Food Engineering*, 81: 721-727.

- Hernández, A., Alfaro, I., Arrieta, R., 2003. Microbiología Industrial. Editorial EUNED, pp 82. Consultado en: https://books.google.com.mx/books?id=KFq4oEQQjdEC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_vpt_buy#v=onepage&q&f=false
- Hervás S. A., 2012. Notas sectoriales: El mercado del queso en México. ICEX Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México. Pp 69.
- Huang, D., Ou, B. & Prior, R. L. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Huth, P., Dirienzo, D. & Miller, G., 2006. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health. *Journal of Dairy Science*, 89: 1207-1221.
- Janzantti, N. S., Macoris, M. S., Garruti, D. S. & Monteiro, M., 2012. Influence of the cultivation system in the aroma of the volatile compounds and total antioxidant activity of passion fruit. *LWT - Food Science and Technology*, 46: 511-518.
- Kausar, H., Saeed, S., Ahmad, M. M. & Salam, A., 2012. Studies on the development and storage stability of cucumber-melon functional drink. *J. Agric. Res*, 50: 239-248.
- Kenward, M. G. and Roger, J. H., 1997. Small Sample Inference for Fixed Effects from Restricted Maximum Likelihood. *Biometrics*, 53, 983–997.
- Khanam, Z., Sam, K. H., Zakaria, N. H. B. M., Ching, C. H. & Bhat, I. U. H., 2015. Determination of polyphenolic content, HPLC analyses and DNA cleavage activity of Malaysian Averrhoa carambola L. fruit extracts. *Journal of King Saud University – Science*, 27: 331-337.
- Kim, I. S., Yang, M., Lee, O. H., & Nam K. S., 2011. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 1328-1332.
- Kitts, David D., 2010. Sucrose: From Field to Table. Professor, Department of Food Science, University of British Columbia Carbohydrate news, 1-4.
- Konta, E. M., Almeida, M. R., Amaral, C. L., Darin, J. D. C., de Rosso, V. V., Mercadante, A. Z., Antunes, L. M. G. & Bianchi, M. L. P., 2014. Evaluation of the Antihypertensive Properties of Yellow Passion Fruit Pulp (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) in Spontaneously Hypertensive Rats. *Phytotherapy Research* 28: 28–32.
- Kosikowski, F. V. 1979. Whey utilization and whey products. *Journal of Dairy Science*, 62: 1149-1160.

- Kroyer, G., 2010. Stevioside and Stevia - sweetener in food: application, stability and interaction with food ingredients. *Journal for Consumer Protection and Food Safety*, 5: 225-229.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini F. J., & Fett, R., 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology Campinas*, 25: 726-732.
- Legarová, V. & Kouřimská, L., 2010. Sensory quality evaluation of whey-based beverages. *Mljekarstvo*, 60: 280-287.
- Leite G. J.J., Moraes D. A., Malveira B. A.S., Feitosa de F.R.M., Piancó de S. E., Leite de S. E., Egypto Q. R., 2013. Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. *Food Science and Technology* 54, 18-24.
- Lemus, M., R., Vega, A., Zura, B., L. & Hen, K., 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132: 1121-1132.
- Londoño, U. M., Aldo, H. M., Sepúlveda V. J., U. & Parra S. J., 2008. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 61: 4409-4421.
- López, A., C. & Denicola, A. 2013. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763: 1-10.
- Malacrida, C. R. & Neuza, J., 2012. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 55: 127-134.
- Marshall, K. 2004. Therapeutic Applications of Whey Protein Alternative *Medicine Review*, 9: 136-156.
- Martínez V., I., Periago, M. J. & Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 50: 5-18
- Massey, L. K. 2007. Food Oxalate: Factors Affecting Measurement, Biological Variation, and Bioavailability. *Journal of the American Dietetic Association*, 107: 1191-1194.
- Miranda, M. O., Fonseca, P.L, Ponce, I., Cedeño, C., Rivero, L.S. & Martí, V. L., 2007. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. Características distintivas y control de la calidad. *RCAN Rev. Cubana Alimentación y nutrición*, 24: 7-16.

- Monsalve J., & González D., 2005. Elaboración de un queso tipo Ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida. *Revista Científica, FCV-LUZ* 6: 543 – 550.
- Mori, K., Yamazaki, K., Ishiyama, T., Katsumata, M., Kobayashi, K., Kawai, Y., Inoue, N. & Shinano, H., 1997. Comparative sequence analyses of the genes coding for 16S rRNA of *Lactobacillus casei*-Related Taxa. *International journal of systematic bacteriology*, 47: 54-57.
- Naczk, M., Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41: 1523–1542.
- Neto, M. M., Silva, G. E., Costa, R. S., Neto, O. M. V., Garcia C, N., Lopes, N. P., Haendchen, P. F., Silveira, C., Mendes, A. R. & Filho, R. 2009. Star fruit: simultaneous neurotoxic and nephrotoxic effects in people with previously normal renal function. *NDT plus*, 2: 485-488.
- NMX-F-083-1986. Alimentos. Determinación de humedad en productos alimenticios. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NMX-F-112-NORMEX-2010. Método de prueba para la determinación de sólidos solubles por lectura refractométrica en productos derivados de las frutas. Norma Mexicana. Diario Oficial de la Federación.
- NMX-F-229-1972. Método de prueba para la determinación de vitamina "c" en leche. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación.
- NMX-F-387-1982. Leche fluida determinación de grasa butírica por el método de Gerber. Normas mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-420-1982. Productos alimenticios para uso humano. Determinación de acidez en leche fluida. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NMX-F-424-S-1982. Productos alimenticios para uso humano. Determinación de la densidad en leche fluida. Normas mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-703-COFOCALEC-2012. Sistema producto leche-alimentos-lácteos-leche y producto lácteo (o alimento lácteo)-fermentado o acidificado-denominaciones, especificaciones y métodos de prueba.
- NMX-F-721-COFOCALEC-2012. Sistema producto leche-alimentos-lácteos-suero de leche (líquido o en polvo)-especificaciones y métodos de prueba. Norma Mexicana. Organismo Nacional de Normalización del sistema Producto Leche.

- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias Aerobias en placa. Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación.
- NOM-121-SSA1-1994. Norma Oficial. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias. Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación.
- NOM-155-SCFI-2003. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación.
- NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Norma Oficial Mexicana. Diario Oficial de la Federación.
- Oroian, M. & Escriche, I., 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74: 10-36.
- Ozmihci, S. & Kargi, F., 2008. Ethanol production from cheese whey powder solution in a packed column bioreactor at different hydraulic residence times. *Biochemical Engineering Journal*, 42: 180-185.
- Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N. & Bunko, K., 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105: 1-14.
- Parra, H. R. A. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín*, 62: 4967-4982.
- Parra, H., R. A., Riveros, A. M., García, J., A. & Montañez, C., 2012. Evaluación fisicoquímica, sensorial y reológica de yogurt con carambolo (*Averrhoa carambola*) y stevia (*Rebaudiana Bertoni*). Programa de Posgrados en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, 19: S258-S260.
- Parra H. R. A., 2015. Evaluación de adición de carambolo, stevia e inulina en yogur. *Cultura Científica* 13:58-67.
- Pedemonte, A., 2014. Las exportaciones de lácteos de los Estados Unidos alcanzaron US\$ 700 millones en marzo. MilkPoint, 25/02/16 consultado en <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/exportacoes-de-lacteos-dos-eua-alcancam-us-700-milhoes-em-marco-88925n.aspx>
- Persson, T., Popescu, B. O. & Cedazo M. A., 2014. Oxidative Stress in Alzheimer's disease: Why did antioxidant therapy fail? Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014: 1-11.

- Pescuma, M., Hébert, E. M. & Mozzi, F., De Valdez, G.F., 2008. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*, 25: 442–451.
- Pisoschi, A. M. & Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97: 55-74.
- Posada, K., Milena, T. D., Ramírez, N. S., 2011. Review: Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboración de postres y productos de confitería. *La Alimentación Latinoamericana* 292: 66-75.
- Póveda, E. E., 2013. Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. Santiago: *Revista chilena de nutrición. Rev Chil. Nutr. Vol. 40: 397-403.*
- Primo, Y. E., 1995. *Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria*. Barcelona: Reverté, vol. 2, pp 895.
- Puri, M., Sharma, D. & Tiwari, A. K. 2011. Downstream processing of stevioside and its potential applications. *Biotechnology Advances*, 29: 781-791.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat, C. & Pouységu, L., 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50: 586-621.
- Rahmawatia, I. S., & Suntornsuk, W., 2016. Effects of Fermentation and Storage on Bioactive Activities in Milks and Yoghurts. *Procedia Chemistry* 18: 53-62.
- Ramírez-Navas. J. S, 2013. *Uso de la fermentación para el aprovechamiento del lactosuero*. Ciudad Universitaria Meléndez, Cali, Colombia: *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 77: 52-61.
- Ramírez-Villalobos, M., Vargas, T. E. & De García, E. 2009. Microcutting culture of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). *Revista Científica UDO Agrícola*, 9: 327-332.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & RICE, E. C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Rispail, N., Morris, P. & Webb, K. J. 2005. Phenolic compounds: extraction and analysis. *Lotus japonicus Handbook*. Springer. Capítulo 7.5, 349-354.
- Rodríguez B. J., Serna J. J., Uribe B. M., Klotz, B., & Quintanilla C., M., 2014. Aplicación de la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto de la concentración de azúcar y de cultivos iniciadores comerciales

- sobre la cinética de fermentación del yogurt. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13: 213-225.
- Roginsky, V. & Lissi, E.A., 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235-254.
- Rojas, D., Narváez, C. & Restrepo, L. 2009. Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. *Quím Nova*, 32: 2336-2340.
- Romero del Castillo, S. & Mestres, L. J., 2004. Productos lácteos. Tecnología, Universidad Politécnica de Catalunya. Pp 217.
- Ryan, K. N., Vardhanabhuti, B., Jaramillo, D. P., Van Zanten, J. H., Coupland, J. N. & Foegeding, E. A., 2012. Stability and mechanism of whey protein soluble aggregates thermally treated with salts. *Food Hydrocolloids*, 27: 411-420.
- Sady, M., Jaworska, G., Grega, T., Bernas, E. & Domagala, J., 2013. Application of Acid Whey in Orange Drink Production. *Food Technology and Biotechnology*, 51: 266-277.
- Saghir, S., SAdikun, A., Khaw, K.Y. & Murugaiyah, V., 2013. Star fruit (*Averrhoa carambola* L.): From traditional uses to pharmacological activities. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12: 209-21
- Salas, R. R. C., Ávalos, D. A., Salazar O. J., Díaz R. P., Hernández M. A., 2015. Tesis de Maestría en Ciencias Innovación Agroalimentaria Sustentable: "Calidad física, química y microbiológica del queso jarocho". Colegio de Postgraduados campus Córdoba.
- Sánchez N Y., Sepúlveda j. U., Rojano B. A., 2013. Desarrollo de una bebida láctea con extractos de curuba (*Passiflora mollissima* Bailey) como antioxidante natural. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 11:164 -173.
- Schaafsma, G., 2008. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *International Dairy Journal*, 18: 458-465.
- Schwentesius R., R., Gómez, C., Gómez, T., Escalante, R., Barrera, G., Gómez, H., & Zamudio, F., 1997. El Maracuyá Fruta de la Pasión: Situación y Tendencias de la Producción y el Comercio en México y en el Mundo. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y Agricultura Mundial, Universidad Autónoma de Chapingo, México, pp 3-225

- Sekher, P., A., Chan, T. S., O'brien, P. J. & Rice, E. C. A., 2001. Flavonoid B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282: 1161-1168.
- Sepúlveda, V. J. U., Flórez, F. L. E. & Peña, A. C. M., 2002. Utilización de lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada con adición de pulpa maracuyá (*passiflora edulis*) variedad púrpura y carbóximetil celulosa (CMC), enriquecida con vitaminas A y D. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 55: 1633-1674.
- Shah, N. P., 2000. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*, 83: 894-907.
- Shori, A. y Baba, A., 2011. *Cinnamomum verum* improved the functional properties of bioyogurts made from camel and cow milks. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10:101-107.
- Shukla, S., Mehta, A., Mehta, P. & Bajpai, V. K., 2012. Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 807-811.
- Shukla M., Jha Kumar Y., & Admassu S., 2013. Development of Probiotic Beverage from Whey and Pineapple Juice. *J. Food Process Technol* 4, 1-4.
- Shui, G. & Leong, L. P., 2004. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1022: 67-75.
- Shui, G. & Leong, L. P. 2006. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, 97: 277-284.
- SIAP-SAGARPA, 2014. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Consultado en: http://www.siap.gob.mx/wpcontent/uploads/boletinleche/b_leche_juliosept2015.pdf.
- Siller C. J.,Muy R. D., Báez S. M., García E. R.,& Araiza L. E., 2004. Calidad en frutos de carambola (*averrhoa carambola* L.) cosechada en cuatro estados de madurez. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10: 23-29.
- Singh, 2016. Enciclopedia Britannica Online: Dairy product, Consultado en <http://www.britannica.com/topic/dairy-product> (08 febrero, 2016).
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics in grapes and wine with phosphomolybdic -phosphotungstic acid reagents. *Amer J Enol Viticult*, 16:144-158

- Siso, M. I. G., 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology*, 57:1-11.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. E., Fujimoto, E. K., Golki, N. M., Olson, B. J., & Klenk, D. C., 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150, 76-85.
- Smithers, G. W., 2008. Whey and whey proteins from 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal*, 18: 695-704
- Smithers, G. W., 2015. Whey-ing up the options – Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, 48: 2-14.
- Spălățelu, C., 2012. Biotechnological valorisation of whey. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 10: 1-8.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros, Z., L. & Hawkins, B., D. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669-675.
- Tello, O., García, Ricardo, & Vásquez, Oscar., 2002. Conservación de *Averrhoa carambola* L "carambola" por azúcar y calor. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 2: 49-58.
- Temple, N. J. 2000. Antioxidants and disease: More questions than answers. *Nutrition Research*, 20: 449-459.
- Tripathi, M. K. & Giri, S. K., 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9: 225-241.
- Tsai, J.-P., Fang, T.-C., Wang, C.-H., Chung, T.-H. & Hsu, B.-G, 2009. Fatal Outcome After Ingestion of Star Fruit in a Severe Chronic Kidney Disease Patient. *Dialysis & Transplantation*, 38: 102-105.
- Valencia, E. & Ramírez, M., 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos: Ciencia y cultura*, 73: 27-31.
- Vasco, C., Ruales, J. & Kamal, A., 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111: 816-823.
- Vázquez-Puente, F., Villegas A. G. & Mosqueda F. P., 2010. Precipitation of whey proteins as a function of acidity, temperature and time from whey produced in Comonfort, Guanajuato, México. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1: 157-169.

- Vázquez-Velázquez C., Rojas, M. G. V., Ramírez, C. A., Chávez, S., J. L., García, G., T., Ferriz M., R. A., García, O. P., Rosado, J. L., López S., C. M., Castellote, A. I., Montemayor, H. M. A. & De la Torre C., K., 2015. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin–Ciocalteu method. *Food Chemistry*, 176: 480-486.
- Velázquez, V. C., Villa, R. M. G., Álvarez, R. C., Chávez, S. J. L., García G. T., Ferriz M., R. A., García, O. P., Rosado, J. L., López, S., C. M., Castellote, A. I., Montemayor, H. M. A. & De la Torre, C. K., 2015. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin–Ciocalteu method. *Food Chemistry*, 176: 480-486.
- Villalba, M., Yepes I., & Arrázola, G., 2006. Caracterización fisicoquímica de frutas de la zona del Sinu para su agroindustrialización. *Temas Agrarios* 11: 15-23.
- Villegas De G., A. & Cervantes E, F., 2011. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales, Universidad Autónoma de Chapingo*, 19; 38, 146-164.
- Wouters, J. T. M., Ayad, E. H. E., Hugenholtz, J. & Smit, G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12: 91-109.
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D. & Surampalli, R. Y. 2015. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*, 33: 756-774.
- Zainudin, M. A. M., Hamid, A. A., Anwar, F., Osman, A. & Saari, N., 2014. Variation of bioactive compounds and antioxidant activity of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at different ripening stages. *Scientia Horticulturae*, 172: 325-331.
- Zeraik, M.L., Pereira C. A.M., Zuin V. G., & Yariwake, J. H., 2010. Maracujá: um alimento funcional? *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20: 459-471.
- Zinoviadou, K. G., Koutsoumanis, K. P. & Biliaderis, C. G., 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82: 338-345.

XI. ANEXOS

A1. PROCESO DE LAS BEBIDAS DE MARACUYA Y CARAMBOLA



Recepción de suero fresco dulce y filtración para eliminar partículas extrañas.



Adición de estabilizante y edulcorante. Se disuelve para pasteurizar a 75 °C.



Enfriamiento del suero pasteurizado a 42°C para inocular con *Lactobacillus casei*.



Fermentación de las bebidas durante 6 horas a 37 °C, posteriormente se enfría para detener la fermentación y se agita.



Adición y mezcla de la pulpa pasteurizada, enseguida se envasan las bebidas para conservarlas en refrigeración a 4°C.

A2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN SAS

```

data bebida;
input BEBIDA $ fruto $ tiempo Tiempo1 REP pH Acidez
      Brix Grasa Humedad Cenizas L C H proteina
      lactosa AzTot AzRed Fenoles DPPH ABTS;
datalines;
ESTEVA carambola 1 1 1 5.04 0.189 5.5 0.05
93.45794393 0.375091283 55.26 14.02462121
68.85103014 8.205328847 4.85915493 3.075675676
1.884451718 704.5126467 4845.528093 5004.235574
ESTEVA carambola 1 1 2 5.04 0.189 5.4 0.05
93.47545348 0.369765815 55.29 12.96919427
72.9622322 8.177941234 4.845505618 3.048648649
1.858265139 735.8940564 4878.735055 5035.272934
ESTEVA carambola 1 1 3 5.05 0.189 5.5 0.05
93.42885572 0.3815915 55.65 12.99231311 72.48549814
8.123166008 4.872881356 3.102702703 1.858265139
782.9661708 4895.338537 5081.828975
ESTEVA carambola 2 7 4 5.03 0.207 5.6 0.05
93.35635359 0.369266649 48.82 10.5109324 89.23682828
8.177941234 4.778393352 2.751351351 1.773158756
1026.604974 5386.37496 5743.563496
ESTEVA carambola 2 7 5 5.03 0.207 5.7 0.05
93.36060667 0.327782008 47.97 10.12126474
90.90578666 8.150553621 4.778393352 2.656756757
1.769885434 1010.539168 5505.377779 5775.342834
ESTEVA carambola 2 7 6 5.03 0.207 5.6 0.05
93.33067172 0.340180557 47.93 9.965189411
93.16388362 8.177941234 4.739010989 2.643243243
1.773158756 962.3417518 5420.375766 5791.232502
ESTEVA carambola 3 14 7 5.02 0.225 6 0.025
92.88854003 0.370701354 47.92 1.914418972
176.1062924 8.068390782 4.70027248 2.305405405
1.864811784 671.7251347 5210.888532 5384.168808
ESTEVA carambola 3 14 8 5.02 0.234 5.9 0.025
92.95079041 0.377520946 47.99 1.981337932
171.5836256 8.041003169 4.674796748 2.224324324
1.868085106 638.8779398 5280.404566 5449.142959
ESTEVA carambola 3 14 9 5.01 0.225 5.9 0.025
93.08310244 0.371069808 47.53 1.874166481
152.3411289 8.041003169 4.674796748 2.278378378
1.864811784 688.1487321 5228.26754 5416.655883
ESTEVA carambola 4 21 10 4.98 0.225 5.8 0.025
93.42121007 0.35945126 44.16 8.615010157 123.0629012
8.041003169 4.637096774 2.089189189 1.674959083
634.6254242 2690.28419 2766.663821
ESTEVA carambola 4 21 11 4.98 0.234 5.6 0.025
93.38614334 0.339038305 44.51 8.670363314
123.1402209 8.013615556 4.612299465 2.17027027
1.668412439 569.3683111 2586.704211 2718.257569
ESTEVA carambola 4 21 12 4.98 0.225 5.6 0.025
93.51151119 0.343563146 45.09 9.161577375

```

	122.1114496	8.041003169	4.624664879	2.12972973
	1.665139116	585.6825894	2552.177551	2653.715901
EST-AZU	carambola	1 1 1	4.99 0.189 8.9	0.05
	90.36630469	0.321330374	56.36 14.12392297	
	70.82099197	8.424429751	4.805013928	4.372972973
	2.195417349	889.1908213	4741.939338	4904.350253
EST-AZU	carambola	1 1 2	4.99 0.18 8.9	0.05
	90.43486855	0.322559191	54.5 13.47579311	
	73.04419098	8.451817364	4.831932773	4.278378378
	2.205237316	813.7077295	4773.889008	4934.212467
EST-AZU	carambola	1 1 3	4.99 0.18 8.9	0.05
	90.36667995	0.318503036	54.43 13.10286228	
	73.91645541	8.369654525	4.831932773	4.305405405
	2.208510638	858.9975845	4694.014833	4814.763611
EST-AZU	carambola	2 7 4	4.96 0.198 8.6	0.05
	90.21478769	0.314871897	47.24 5.357256761	
	82.3841543	8.205328847	4.713114754	4.197297297
	1.995744681	742.2469087	4142.955728	4193.17481
EST-AZU	carambola	2 7 5	4.97 0.207 8.7	0.05
	90.22190294	0.305444887	45.71 6.373107562	
	83.33218044	8.260104073	4.713114754	4.251351351
	2.005564648	709.1846856	4177.941282	4242.22443
EST-AZU	carambola	2 7 6	4.96 0.198 8.7	0.05
	90.1989374	0.324901369	47.14 6.542858702	82.7120577
	8.095778395	4.739010989	4.116216216	2.015384615
	775.3091318	4247.91239	4274.924176	
EST-AZU	carambola	3 14 7	4.95 0.216 8.6	0.025
	89.8040988	0.332094828	42.24 3.518096076	126.4464573
	7.6849642	4.649595687	4.318918919	2.139770867
	487.6060013	2741.00096	3943.005418	
EST-AZU	carambola	3 14 8	4.95 0.216 8.6	0.025
	89.79376728	0.325289607	42.44 3.616019911	
	126.6797575	7.712351813	4.624664879	4.278378378
	2.152864157	406.0665362	2758.257533	3878.489011
EST-AZU	carambola	3 14 9	4.94 0.216 8.5	0.025
	89.93251726	0.320110884	42.8 3.676044069	
	127.1504515	7.6849642	4.649595687	4.264864865
	2.14304419	422.3744292	2792.77068	3830.101705
EST-AZU	carambola	4 21 10	4.93 0.225 8.7	0.025
	90.17732338	0.341604898	46.46 5.275225114	
	123.8708107	7.630188975	4.551451187	3.927027027
	2.031751227	499.3213108	2203.040963	2308.859144
EST-AZU	carambola	4 21 11	4.93 0.225 8.7	0.025
	90.20163705	0.287769784	46.43 7.110028129	
	126.7087285	7.630188975	4.563492063	3.859459459
	2.044844517	467.0027794	2220.140263	2372.78756
EST-AZU	carambola	4 21 12	4.92 0.225 8.7	0.025
	90.21721959	0.268490699	46.46 7.188017807	
	126.7423613	7.657576588	4.587765957	3.832432432
	2.051391162	418.5249822	2203.040963	2340.823352
AZUCAR	carambola	1 1 1	4.54 0.225 12.5	0.05
	86.97132616	0.320313777	50.79 10.45503228	
	78.91576723	8.177941234	4.900568182	6.913513514
	2.545662848	857.5445173	3650.186018	3884.85392
AZUCAR	carambola	1 1 2	4.54 0.225 12.4	0.05
	86.86783082	0.312550871	50.3 8.270532026	

	85.07527009	8.123166008	4.85915493	6.954054054			
	2.54893617	888.7847548	3617.12844	3900.302788			
AZUCAR	carambola	1	1	3	4.54	0.225	12.5 0.05
	86.8569519	0.311271298	50.13	9.766974967			80.39301614
	8.095778395	4.85915493	6.940540541	2.56202946			
	810.6841612	3567.542073	3915.751656				
AZUCAR	carambola	2	7	4	4.53	0.234	12.2 0.05
	86.78163216	0.298924522	48.54	8.543283912			
	98.00680423	8.041003169	4.726027397	5.008108108			
	2.123404255	620.3758266	1573.404219	1658.840846			
AZUCAR	carambola	2	7	5	4.52	0.243	12.1 0.05
	86.78369331	0.312344243	48.5	8.746473575			
	94.45899553	7.931452717	4.70027248	4.954054054			
	2.133224223	604.0070713	1625.367146	1691.21944			
AZUCAR	carambola	2	7	6	4.52	0.243	12.2 0.05
	86.77661289	0.30622774	48.87	9.010671451			90.69946977
	7.95884033	4.6875	4.940540541	2.162684124			
	669.4820926	1608.04617	1626.462252				
AZUCAR	carambola	3	14	7	4.46	0.261	12 0.025
	86.36049383	0.313060492	47.21	1.489765082			
	154.9831065	7.986227943	4.70027248	3.427027027			
	2.067757774	758.8996764	2257.403012	3640.315069			
AZUCAR	carambola	3	14	8	4.47	0.261	12.1 0.025
	86.39845612	0.315684191	47.7	1.525417976			
	154.7788848	8.013615556	4.6875	3.440540541			
	2.071031097	645.631068	2206.035388	3592.303587			
AZUCAR	carambola	3	14	9	4.48	0.261	12.1 0.025
	86.35455381	0.294526441	47.79	3.685986978			
	133.1311271	7.931452717	4.674796748	3.494594595			
	2.051391162	694.1747573	2154.667763	3656.318896			
AZUCAR	carambola	4	21	10	4.35	0.279	12.1 0.025
	86.83401741	0.367276628	47.21	3.299848481			
	148.3811228	7.739739426	4.503916449	3.562162162			
	1.953191489	644.2103869	1907.285468	2005.873006			
AZUCAR	carambola	4	21	11	4.35	0.27	12.1 0.025
	86.86255512	0.275710869	47.29	6.478780749			
	130.9945794	7.821902265	4.527559055	3.62972973			
	1.963011457	611.0890302	1889.761404	1973.114774			
AZUCAR	carambola	4	21	12	4.35	0.279	12.2 0.025
	86.93212453	0.366602814	47.74	5.332785389			
	133.7843569	7.767127039	4.4921875	3.616216216			
	1.959738134	544.8463169	1872.23734	2055.010353			
ESTEVIA	maracuya	1	1	1	3.61	0.99	7.7 0.05
	91.93419741	0.417178708	41.59	21.5867413	87.74333672		
	8.260104073	4.845505618	3.291891892	2.267430442			
	800.589391	3531.368153	3704.330378				
ESTEVIA	maracuya	1	1	2	3.63	0.99	7.7 0.05
	91.9029308	0.394205184	40.13	19.45806003	88.35080849		
	8.177941234	4.886685552	3.332432432	2.244517185			
	735.1015062	3514.043774	3736.338033				
ESTEVIA	maracuya	1	1	3	3.62	0.99	7.7 0.05
	91.92537964	0.387496771	40.47	20.67557254			
	88.66971301	8.150553621	4.831932773	3.372972973			
	2.257610475	767.8454486	3479.395016	3768.345687			
ESTEVIA	maracuya	2	7	4	3.6	1.035	7.8 0.05
	91.70367459	0.39532257	37.72	17.21978513	103.1243015		

	7.931452717	4.791666667	2.62972973	2.234697218			
	943.9909748	4631.799566	5340.385082				
ESTEVI	maracuya	2	7	5	3.6	0.99	7.7 0.05
	91.65571878	0.392881904	38.33	16.29846619			
	104.2067661	7.95884033	4.778393352	2.67027027			
	2.241243863	927.4006238	4579.133178	5373.202008			
ESTEVI	maracuya	2	7	6	3.61	1.035	7.8 0.05
	91.64655912	0.385138949	37.45	16.970165	103.0781272		
	7.931452717	4.778393352	2.724324324	2.244517185			
	993.762028	4526.46679	5274.751229				
ESTEVI	maracuya	3	14	7	3.61	1.035	7.6 0.025
	92.08229549	0.423589676	37.28	15.06721275			
	106.1856722	7.876677491	4.6875	2.805405405			
	2.195417349	817.5803403	2847.767102	2967.50346			
ESTEVI	maracuya	3	14	8	3.6	1.035	7.6 0.025
	92.03266607	0.423149968	37.36	14.9008993	106.0510296		
	7.904065104	4.713114754	2.859459459	2.198690671			
	801.8273472	2764.420138	2842.861175				
ESTEVI	maracuya	3	14	9	3.6	1.035	7.6 0.025
	91.99272611	0.384261692	37.58	16.42284385			
	103.4862344	7.876677491	4.726027397	2.737837838			
	2.198690671	849.0863264	2747.750745	2874.021746			
ESTEVI	maracuya	4	21	10	3.57	1.035	7.5 0.025
	91.62412253	0.381274451	38.83	16.59435145			
	103.8771355	7.876677491	4.563492063	2.237837838			
	2.107037643	557.199211	1058.139688	1860.788023			
ESTEVI	maracuya	4	21	11	3.55	1.035	7.5 0.025
	91.61451066	0.364830354	37.56	15.03803511			
	104.636903	7.849289878	4.587765957	2.318918919			
	2.097217676	507.8895464	1023.354248	1877.044377			
ESTEVI	maracuya	4	21	12	3.55	1.035	7.4 0.025
	91.54963151	0.375148687	37.9	15.5088233	104.7172372		
	7.904065104	4.624664879	2.264864865	2.080851064			
	491.4529915	1005.961529	1812.018964				
EST-AZU	maracuya	1	1	1	3.65	0.99	10.8 0.05
	88.57413399	0.367854184	42.04	10.64787772			
	85.85304283	8.397042138	4.872881356	4.508108108			
	2.493289689	798.862968	3489.17893	4353.901286			
EST-AZU	maracuya	1	1	2	3.64	0.99	10.9 0.05
	88.62479794	0.388136943	41.13	10.68777339			
	85.86854966	8.397042138	4.831932773	4.589189189			
	2.493289689	815.1996341	3437.31787	4418.531524			
EST-AZU	maracuya	1	1	3	3.64	0.99	10.9 0.05
	88.7745243	0.408042384	42.33	10.94384302	85.4928789		
	8.424429751	4.85915493	4.62972973	2.490016367			
	733.516304	3402.74383	4467.004202				
EST-AZU	maracuya	2	7	4	3.64	0.99	10.9 0.05
	88.30093018	0.3665567	38.3	8.877893894	102.4238064		
	8.150553621	4.752066116	3.683783784	2.234697218			
	619.3478538	2221.174152	3944.072593				
EST-AZU	maracuya	2	7	5	3.64	0.99	10.9 0.05
	88.2908498	0.406826751	38.28	18.0374333	103.8898649		
	8.205328847	4.778393352	3.737837838	2.23797054			
	635.2693924	2204.326409	4007.060527				
EST-AZU	maracuya	2	7	6	3.63	0.99	11 0.05
	88.27477379	0.415616716	38.92	18.20229931			

	104.0209748	8.23271646	4.778393352	3.697297297				
	2.244517185	587.5047765	2153.783179	4022.80751				
EST-AZU	maracuya	3	14	7	3.64	0.99	11	0.025
	88.90243171	0.443122112	35.76	14.13016631				
	107.7168656	8.205328847	4.674796748	3.872972973				
	2.365630115	527.4458551	1594.340442	3823.457157				
EST-AZU	maracuya	3	14	8	3.63	0.99	11	0.025
	88.93488521	0.459005488	35.76	12.95469027				
	107.4279002	8.177941234	4.6875	3.927027027				
	2.352536825	543.0047299	1577.87646	3715.739088				
EST-AZU	maracuya	3	14	9	3.63	0.99	11	0.025
	88.90677134	0.364963504	35.86	15.00646527				
	105.221632	8.095778395	4.70027248	3.832432432				
	2.372176759	558.5636047	1544.948496	3761.903975				
EST-AZU	maracuya	4	21	10	3.6	0.99	11	0.025
	88.14455446	0.438098329	36.09	14.19240994				
	106.3280275	7.95884033	4.637096774	3.616216216				
	2.031751227	493.3636046	1537.518455	1662.000522				
EST-AZU	maracuya	4	21	11	3.6	0.99	11.2	0.025
	88.17030551	0.364243436	35.95	14.74029172				
	105.7051299	7.986227943	4.6	3.67027027	2.041571195			
	537.0241006	1506.718215	1705.182348					
EST-AZU	maracuya	4	21	12	3.6	1.035	11.1	0.025
	88.10915029	0.403452495	36.34	15.14950164				
	105.8986408	8.013615556	4.612299465	3.562162162				
	2.015384615	478.8101059	1475.917974	1633.212638				
AZUCAR	maracuya	1	1	1	3.62	0.945	14.6	0.05
	84.76604146	0.352575403	49.54	14.86186058				
	82.96583817	8.314879299	4.831932773	7.102702703				
	2.75188216	738.4382606	1998.529111	3716.211232				
AZUCAR	maracuya	1	1	2	3.61	0.9	14.6	0.05
	84.70778379	0.325743726	49.88	24.41253776				
	82.79929574	8.260104073	4.872881356	7.062162162				
	2.761702128	754.8845471	2015.932128	3602.349386				
AZUCAR	maracuya	1	1	3	3.61	0.945	14.6	0.05
	84.72277306	0.357061707	50.27	24.28645713				
	82.52383925	8.23271646	4.805013928	7.075675676				
	2.748608838	787.7771199	1998.529111	3651.14732				
AZUCAR	maracuya	2	7	4	3.59	0.99	14.2	0.05
	85.11310353	0.365024058	42.16	8.382487698				
	110.5320453	8.150553621	4.6875	4.062162162				
	2.45400982	406.2255286	1326.481134	3121.642998				
AZUCAR	maracuya	2	7	5	3.58	0.99	14.1	0.05
	85.06291813	0.299830096	42.2	8.458995212				
	109.9773197	8.123166008	4.674796748	4.143243243				
	2.447463175	373.5969721	1378.271124	3170.04925				
AZUCAR	maracuya	2	7	6	3.58	0.99	14.1	0.05
	85.07060795	0.347026824	42.84	8.530041032				
	110.3044737	8.23271646	4.6875	4.17027027	2.45400982			
	471.4826416	1309.217805	3186.184667					
AZUCAR	maracuya	3	14	7	3.59	1.125	14.6	0.025
	92.16279718	0.353683406	37.74	15.25898096				
	109.0880331	8.041003169	4.637096774	4.467567568				
	2.395090016	712.8614158	2001.668179	3590.397848				
AZUCAR	maracuya	3	14	8	3.58	1.08	14.5	0.025
	85.44951425	0.359844068	37.58	15.03146367				

		109.146137	8.068390782	4.6	4.481081081	2.372176759
		762.7118644	1966.501244		3623.267124	
AZUCAR	maracuya	3	14	9	3.58 1.08 14.6	0.025
		85.43434503	0.340615072		37.57 15.05124912	
		109.3619062	8.013615556		4.612299465	4.413513514
		2.378723404	862.4127617		2019.251646	3639.701762
AZUCAR	maracuya	4	21	10	3.56 1.125 14.6	0.025
		84.43271242	0.404321601		36.48 13.84154977	
		112.6931006	7.95884033	4.411764706		3.845945946
		2.23797054	512.7957819	1698.269806		1962.957692
AZUCAR	maracuya	4	21	11	3.55 1.125 14.5	0.025
		84.45199491	0.372328048		37.3 12.61245813	
		111.9279459	7.931452717		4.400510204	3.886486486
		2.241243863	464.5704733		1800.331251	1978.856556
AZUCAR	maracuya	4	21	12	3.55 1.125 14.5	0.025
		84.4521052	0.393403412	36.82	8.953770156	110.2564622
		8.041003169	4.400510204		3.954054054	2.23797054
		448.4953704	1664.249324		2010.654284	

```

;
proc glimmix data=bebida nobound ;
class BEBIDA      fruto tiempo      Tiempo1      REP;
model    PH = fruto|bebida|tiempo;/*      Acidez      ddfm=krBrix
      Grasa Humedad      Cenizas      L      C      H      proteina      lactosa
      AzTot AzRed Fenoles      DPPH ABTS*/
random tiempo/subject=fruto*bebida(rep)type=cs;
*random _residual_;
*random fruto*bebida(rep);
lsmeans fruto|bebida|tiempo/plot=meanplot(sliceby=fruto*bebida join)
lines;
run;quit;

```