

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

**PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERIA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE ALIMENTOS**



**FERMENTACION LACTICA DE PRODUCTOS VEGETALES
TIPO LECHE**

Por:

SOFIA MELINNA ALCOCER HERRERA

MONOGRAFIA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SALTILLO, COAHUILA, MEXICO

JUNIO, 2025

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**FERMENTACION LACTICA DE PRODUCTOS VEGETALES
TIPO LECHE**

POR:

SOFIA MELINNA ALCOECER HERRERA

Presentada como requisito parcial para obtener el titulo de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

APROBADA POR EL COMITÉ DE ASESORIA:



OSCAR NOE REBOLOSO PADILLA

ASESOR PRINCIPAL




CARLOS A. GARCIA AGUSTINCE

COASESOR



JOSE DANIEL CORONA FLORES

COASESOR



MC. PEDRO CARRILLO LOPEZ
COORDINADOR DE LA DIVISION
CIENCIA ANIMAL



SALTILLO, COAHUILA, MEXICO
JUNIO 202

DECLARATORIA DE NO PLAGIO

Declaro que el trabajo de investigación bibliográfica titulado como **FERMENTACION LACTICA DE PRODUCTOS VEGETALES TIPO LECHE** es una producción personal, donde no se ha copiado, replicado utilizando ideas, citas integrales e ilustraciones diversas, obtenidas de cualquier tesis, obra intelectual, artículo memoria, sin mencionar de forma clara y exacta su origen de autor.

En este sentido, lo anterior puede ser confirmado por el lector, estando consciente de que en el caso de comprobarse plagio en el texto o que no se respetaron los derechos de autor; esto será en objeto de sanción del comité editorial y/o legales a las que haya lugar; quedando, por tanto anulada el presente documento académico sin derecho a la aprobación de este, ni en nuevo envío.

ATENTAMENTE

Sofia Melinna Alcocer H.
SOFIA MELINNA ALCOCER HERRERA

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por haberme regalado esta vida maravillosa y darme la oportunidad de ver concluida mi carrera profesional.

A mi **Alma Terra Mater**, por brindarme la grandiosa oportunidad y por abrir las puertas de sus instalaciones, proporcionándome todos sus servicios que en su momento necesité, gracias por esas experiencias que día atrás día fui recopilando con sabiduría y grandeza en mi formación académica, para ser una mejor persona y un excelente profesionista, “GRACIAS POR TANTO MI NARRO”.

Al Q.F. B. Oscar Noé Reboloso Padilla, por ser un apoyo fundamental durante mi estancia en la universidad, por su buena disposición en todas las situaciones y admirando siempre su forma de enseñar, siendo una gran inspiración y ejemplo, gracias por ser parte de mi formación profesional.

A la Dra. Xóchilt Ruelas Chacón, por todo el apoyo que me brindo, por ser esa excelente profesora, mujer excepcional y ejemplar, por todo ese entusiasmo en cada una de sus clases, siempre con la mejor actitud y disponibilidad.

DEDICATORIAS

A mis padres, Jesús Gregorio Alcocer Hernández y Ana María Herrera Ibarra

A mis hermanos, Fidencio Bernardo y Ana Cristina

Dedicando siempre cada uno de mis logros a ustedes. Su dedicación y esfuerzo constante para asegurarme una educación son un regalo que valoro más allá de las palabras. Con la finalización de mi carrera es un testimonio de su sacrificio y amor, y me llena de orgullo honrarlos de esta manera. Gracias por ser los faros en mi vida, por iluminar el camino hacia el conocimiento y por inculcarme la importancia del trabajo duro y la educación. Los amo profundamente.

A mi mejor amiga Ivonne Anaya Zamudio, con su apoyo, lealtad, compañía y cariño contribuyendo a mi fortaleza y ánimo para lograr concluir esta etapa, dúrame para siempre hermana.

A Isabel López Cabañas por ser una amiga excepcional en mi vida. Tu presencia, tu alegría, tú sabiduría y empatía me han hecho más fuerte y mejor persona, eternamente agradecida.

A Kayssy Dayam Berrum Jaimes una de mis primeras amistades en la universidad, por tu empatía, solidaridad, cariño y siempre estar presente cuando más lo necesite.

A María Monserrath Cruz Morales, aunque fue poco el tiempo agradezco que me hayas hecho creer en que no importa el tiempo si no la conexión eres un gran ejemplo de amistad verdadera, te quiero botuda.

PERSONAS DISTINGUIDAS

Ing. Gil Cabrera, Ing. Eduardo Alonso, Enfermera Norma, Pedro Negrete, Nadia Cepeda y Familia, Sebastián Bribiesca, Iván cortés, Mario Aguirre, Paola Molina, Lourdes Favela. Son muchas las personas especiales que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía, siempre en mis recuerdos y en mi corazón. Sin importar en donde estén o si llegan a leer estas dedicatorias quiero darles las gracias por formar parte de mí, por lo que me brindaron y por sus bendiciones.

Contenido

| | |
|---|-------------------------------|
| DECLARATORIA DE NO PLAGIO | ¡Error! Marcador no definido. |
| AGRADECIMIENTOS | i |
| DEDICATORIAS | iii |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| PRODUCCIÓN DE BEBIDA DE ORIGEN VEGETAL..... | 4 |
| COMPOSICION QUIMICA Y NUTRICIONAL | 5 |
| CONDICIONES DE FERMENTACIÓN DE LAS BEBIDAS VEGETALES | 7 |
| PROCESOS DE FERMENTACION | 10 |
| Sistema proteolítico | 10 |
| Proteólisis en alternativas de origen vegetal | 12 |
| Metabolismo del azúcar | 18 |
| Formación de exopolisacáridos | 20 |
| Exopolisacáridos en bebidas vegetales | 21 |
| Aplicaciones..... | 23 |
| VALORACIÓN FISICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE LAS BEBIDAS VEGETALES FERMENTADAS..... | 25 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | ¡Error! Marcador no definido. |
| Caracterización de la materia prima | 28 |
| Análisis Microbiológicos: | 28 |
| Desarrollo de la formulación | 28 |
| Preparación de la leche vegetal de amaranto y sésamo | 29 |
| Vida útil..... | 29 |
| Evaluación sensorial | 29 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | ¡Error! Marcador no definido. |
| Evaluación sensorial de la bebida vegetal de amaranto y sésamo..... | 31 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 35 |

INTRODUCCIÓN

Recientemente ha habido un aumento en el consumo de sustitutos de la leche de vaca, específicamente bebidas de origen vegetal, a las cuales de forma equivocada se les ha dado el nombre de "leches vegetales". Según la Norma General del Codex sobre el Uso de Términos Lácteos, la leche es "la secreción mamaria normal de los animales lecheros, obtenida de uno o más ordeños, sin ninguna adición a ella ni extracción de ella, destinada al consumo como leche líquida o para su posterior procesamiento", y recomienda sustituir el término "leche de soja" por "bebida a base de soja". Según la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), las bebidas de origen vegetal como alternativas a la leche se definen como aquellos alimentos que tienen las características físicas de la leche o los productos lácteos, como el sabor, el aroma, el cuerpo, la textura y la apariencia, pero que no cumplen con la definición de leche y son nutricionalmente inferiores al producto que desean imitar. Sin embargo, entre sus definiciones de leche, la *Real Academia Española* incluye "una bebida blanquecina o lechosa hecha de verduras, plantas o semillas" pero también hay una serie de términos alternativos que se pueden utilizar, como "bebida a base de plantas", o simplemente "bebida", o incluso "bebida fortificada". Estos sustitutos de la leche se basan en la extracción acuosa de diferentes categorías de plantas: legumbres, como la soja, el cacahuete, los guisantes o el frijol mundo; frutos secos, como las almendras y las avellanas; semillas oleaginosas, como las semillas de sésamo y de cáñamo; plantas oleaginosas, como las palmeras que producen cocos; cereales, como el maíz, el trigo, el trigo khorasan, la avena, el arroz y la espelta; pseudocereales, como el amaranto, la quinoa y el trigo sarraceno; y juncos, como la almendra de tierra.. Las bebidas vegetales no tienen un estándar de identidad, por lo que su composición nutricional puede variar de marca en marca, inclusive dentro de la misma categoría. El objetivo de esta revisión narrativa fue generar una opinión técnica que sirva como marco de referencia para sustentar la recomendación sobre el consumo de bebidas vegetales. (R. Vázquez-Frias, 2020)

La bebida de origen vegetal es la que se produce con ingredientes vegetales como la avena, las almendras y la soja. Esta bebida es una alternativa para las personas

que no consumen leche de vaca. Una quinta parte de estos productos alternativos tienen escrito en sus empaques lemas como “alto contenido de proteína” o “fuente de proteína”, que son muy comunes en Norteamérica y Australia. Más del 40% de los consumidores de todo el mundo han expresado que es “muy” o “extremadamente” importante que los productos de origen vegetal contengan el mismo contenido de proteína y el mismo valor nutricional que los productos de origen animal. (Amano enzyme, 2024)

En los últimos años, el interés por las alternativas vegetales en una alimentación saludable ha crecido de manera exponencial. Cada vez más personas optan por productos libres de lactosa y buscan fuentes de proteínas vegetales para complementar su dieta. Una de las opciones más populares y versátiles en este ámbito es la bebida vegetal.

Las bebidas y productos de origen vegetal se han consumido desde las primeras civilizaciones en todo el mundo, comenzando como producciones a pequeña escala para el individuo, la familia inmediata o una pequeña comunidad local. En los últimos 20 años, ha habido un aumento global en el consumo de bebidas de origen vegetal, siendo las bebidas de soya las de mayor demanda en América del Norte, seguidas de América Latina, Europa y Asia. Diversos factores explican la creciente popularidad de estas bebidas como alternativas a la leche de vaca, e incluyen una mayor conciencia de la relación entre la nutrición y la alta prevalencia de enfermedades crónicas; la presencia de entidades, como la intolerancia a la lactosa o la alergia a la proteína de la leche de vaca (APLV); un mayor interés del consumidor en las proteínas y el reconocimiento de los alimentos de soya como buenas fuentes de proteína de alta calidad; y la difusión de resultados de investigación que sugieren que los productos de soya pueden ser beneficiosos para la salud. Existe una percepción actual de que las bebidas de origen vegetal, como las elaboradas con soya, son saludables, debido al énfasis que se pone en su contenido de vitaminas, fibra y bajo colesterol. En consecuencia, un número creciente de consumidores han optado por dichas bebidas, añadiéndolas a su dieta como parte de una mejora intencionada en el estilo de vida pesar de que muchas

bebidas vegetales intentan parecerse a la leche en color y sabor, su composición nutricional es diferente. El contenido proteico de ciertas bebidas vegetales puede ser alto (bebidas a base de legumbres), medio (a base de cereales) o bajo (algunas bebidas a base de arroz o frutos secos). Cabe señalar que las bebidas vegetales no tienen un estándar de identidad, por lo que su composición nutricional puede variar de una marca a otra, incluso dentro de la misma categoría. Por lo tanto, siempre se debe verificar la composición nutricional del producto. Además, es fundamental comprender que el valor nutricional de una bebida vegetal no es equivalente al de su alimento original. Muchos trastornos gastrointestinales se asocian con la dieta, y los pacientes a menudo restringen o añaden alimentos a su dieta por iniciativa propia, siguiendo consejos basados en creencias populares. (R. Vázquez-Frias, 2020)

PRODUCCIÓN DE BEBIDA DE ORIGEN VEGETAL

La leche o bebida vegetales se obtiene a partir de diferentes alimentos de origen vegetal, como la soja, la almendra, el arroz, la avena o el coco, entre otros. Aunque el proceso puede variar ligeramente según el tipo de bebida vegetal que se desee obtener, los pasos básicos son similares.

Este proceso se puede hacer según distintos métodos, por ejemplo, empleando una batidora, tarros y una malla fina al modo tradicional, o con la ayuda de máquinas para la elaboración de bebidas vegetales.

En general, se siguen los siguientes pasos:

1. Remojo: Muchos alimentos vegetales utilizados para hacer leche vegetal requieren un remojo previo para ablandarlos y facilitar su posterior procesamiento. Por ejemplo, las almendras se dejan en remojo durante varias horas o toda la noche antes de su uso.
2. Trituración: Una vez remojados, los alimentos se trituran en una licuadora o procesadora de alimentos. Esto ayuda a liberar los nutrientes y las sustancias que darán sabor y textura a la leche vegetal.

3. Filtrado: La mezcla triturada se cuela a través de un filtro o una bolsa de tela para separar la pulpa o los sólidos de la leche líquida. Este paso es esencial para obtener una consistencia suave y libre de grumos.
4. Endulzado y saborización (opcional): Si se desea, se pueden añadir ingredientes como dátiles, vainilla o canela para endulzar y dar sabor a la leche vegetal. Esta etapa es totalmente personalizable según los gustos individuales. (Bueno y Vegano , 2023)

Hay dos métodos principales para procesar la leche de origen vegetal: el húmedo y el seco. El proceso húmedo consiste en remojar y moler la materia prima en grandes depósitos de agua, durante unas 12 horas. En algunos casos, se agregan enzimas a los almidones hidrolizados (por ejemplo, en la producción de leche de avena). El proceso seco consiste en moler la materia prima y obtener una harina o polvo que posteriormente se procesa para separar el almidón, la proteína y la fibra según se desee, antes de su hidratación. Como resultado, los procesos de producción en seco pueden resultar en un mayor contenido de proteínas en el producto final.

En estos procesos es importante mezclar bien los productos, especialmente los que contienen aceites o agentes espesantes o estabilizantes. Por lo tanto, mantener la consistencia del producto es un objetivo clave en el proceso de producción. (Explorando el Crecimiento de las Leches de Origen Vegetal, 2022)

COMPOCISION QUIMICA Y NUTRICIONAL

Estas bebidas suelen sustituir el consumo de leche, pero en aporte nutrimental son distintas. La leche aporta nutrimentos esenciales para el organismo tales como proteína, grasa y calcio, las bebidas vegetales también, pero la diferencia entre ambas radica en la cantidad de nutrientes que aportan. (Estudio calidad bebidas vegetales. PDF, 2019)

Enseguida se resumen la diferencia en la composición nutricional entre la bebida de origen vegetal común y la leche de vaca. Cualquier tipo de bebida de origen vegetal no iguala el valor nutricional de la leche de vaca. Especialmente, la bebida de origen vegetal tiene menos proteína y más contenido de carbohidratos.

| Composición nutricional (por cada 100 ml) | Leche de vaca | Avena | Almendra | Guisantes (arvejas) | Soya |
|--|---------------|--------|----------|------------------------|--------|
| Calorías | 66kcal | 48kcal | 22kcal | 45kcal | 42kcal |
| Proteína | 3.5g | 1.1g | 0.4g | 2.1g | 3.3g |
| Carbohidratos | 4.7g | 7.2g | 2.4g | 2.1g | 2.7g |
| Azúcares | 4.7g | 3.5g | 2.4g | 1.4g | 2.5g |
| Lípidos | 3.7g | 1.5g | 1.1g | 3.2g | 1.9g |

Las bebidas de almendra, arroz, coco y avena tienen un mínimo aporte de proteína, a diferencia de las bebidas de soya cuyo contenido es mayor, parecido incluso, en algunas marcas, al de la leche de vaca. En estos productos, aunque el cereal, semilla o fruto tengan proteína, el nutriente disminuye porque la proporción es baja.

Aunque no es de esperarse, también contienen sodio, proveniente principalmente de los emulsificantes y estabilizantes (que se usan en su fabricación como ingredientes que ayudan a mantener una sola fase en el producto), y algunos simplemente adicionan sal.

Hay bebidas vegetales hasta con 3% de azúcar, la adición no va relacionada con un tipo determinado de bebida (arroz, coco, almendra), depende de la fórmula de cada fabricante. Por ejemplo, puedes encontrar bebidas de almendra sin azúcar y otras de almendra con 3% de azúcar. (Estudio calidad bebidas vegetales. PDF, 2019)

CONDICIONES DE FERMENTACIÓN DE LAS BEBIDAS VEGETALES

La fermentación de la leche de vaca por bacterias del ácido láctico está bien documentada, pero se ha prestado poca atención a cómo ocurren los procesos moleculares involucrados en la fermentación en las bebidas de origen vegetal. Comprender cómo ocurre la fermentación en los sustitutos lácteos de origen vegetal y cómo la fermentación influye en el sabor y la textura es clave para desarrollar productos que sean atractivos para los consumidores que desean cambiar a alternativas de origen vegetal.

El consumo de productos lácteos está disminuyendo en muchos países occidentales, mientras que las ventas de leche de origen vegetal están aumentando. La bebida de origen vegetal ahora representa el 15% de la industria láctea total, y otras alternativas de bebidas de origen vegetal también están aumentando en popularidad. Ahora hay una amplia gama de productos lácteos alternativos de origen vegetal disponibles, con mercados para estos productos que se estiman en millones o miles de millones de dólares. Una mayor conciencia sobre los impactos ambientales de la producción lechera, las preocupaciones éticas, razones médicas como la intolerancia a la lactosa y la alergia a la leche de vaca, y una mayor percepción de la leche como "insalubre" contribuyen a que los consumidores elijan alternativas de origen vegetal a la leche y los productos lácteos. Las bebidas vegetales utilizan menos energía en su producción y resultan en la emisión de menos gases de efecto invernadero por gramo de proteína que las leches animales, lo que las convierte en una opción atractiva para quienes desean reducir su huella de carbono. También son una buena alternativa para quienes no pueden consumir leche de vaca por razones médicas, ya que no contienen lactosa ni otros alérgenos presentes en la leche de vaca, aunque algunas bebidas vegetales como la de soja o la de frutos secos contienen otros alérgenos. Tienden a ser más bajas en grasas, especialmente grasas saturadas, por lo que pueden ser una buena opción para quienes buscan alternativas bajas en grasas. Además, las bebidas vegetales se pueden producir de manera que contengan fibra dietética, lo que añade beneficios nutricionales que no se encuentran en la leche de vaca. Por otro lado, las bebidas

vegetales actuales son generalmente más bajas en proteínas, excepto la de soja, que es comparable con la leche de vaca, y las bebidas vegetales son comúnmente fortificadas con nutrientes como calcio y vitamina B12 para mejorar la calidad nutricional. Las bebidas vegetales a menudo contienen proteínas menos completas, por ejemplo, los cereales pueden ser deficientes en lisina, mientras que las legumbres tienden a ser deficientes en metionina y cisteína. Se pueden utilizar estrategias para combatir esto, como combinar tipos de leche vegetal en un producto para proporcionar un perfil general completo de aminoácidos. Las proteínas vegetales también tienden a ser más difíciles de digerir. Esto puede deberse a compuestos de factores antinutricionales presentes como inhibidores de proteasas y polisacáridos no amiláceos, así como a propiedades inherentes a la estructura de la proteína como reticulación, hidrofobicidad y elementos de estructura secundaria.

Las bacterias del ácido láctico (BAL) son el grupo de especies responsables de la fermentación en alimentos lácteos y se han utilizado en la fermentación de alimentos durante siglos. En estos alimentos, la fermentación puede mejorar el sabor y la textura de los productos. Por ejemplo, la descomposición de las proteínas en aminoácidos y luego en compuestos orgánicos volátiles es una de las principales fuentes de compuestos de sabor en el queso, y la producción de exopolisacáridos a partir de azúcares mejora la textura de quesos y yogures. La fermentación tiene beneficios para la salud bien documentados, como la introducción de pequeñas moléculas bioactivas que incluyen péptidos bioactivos y, en algunos casos, puede mejorar el contenido de vitaminas. La fermentación también puede extender la vida útil del producto. Las LAB acidifican el medio, convirtiéndolo en un entorno menos hospitalario para otros organismos microbianos, y también producen una variedad de compuestos que inhiben el crecimiento de otros organismos, como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas.

Una razón para la resistencia a la adopción de bebidas vegetales es la presencia de sabores indeseables a "frijoles" y texturas indeseables. Estos sabores indeseables pueden atribuirse en gran medida a los aldehídos, principalmente

hexanal, pero también 3-Z-hexenal, así como a alcoholes como *n*-hexanal, *n*-pentanol y *n*-heptanol, cetonas como etil vinil cetona y furanos como *n*-pentil furano y 2-(1-pentenil) furano . La fermentación de bebidas vegetales mediante una variedad de LAB puede eliminar completamente el hexanal y disminuir la concentración de otros compuestos orgánicos volátiles que contribuyen a la soja. Los factores antinutricionales presentes en las plantas, como taninos, saponinas, ácido fítico, α -galactósidos e inhibidores de tripsina, también se degradan durante la fermentación por las BAL, lo que mejora la calidad nutricional de los productos lácteos vegetales. Por lo tanto, la fermentación y el desarrollo de productos fermentados podrían ser una vía importante para mejorar la calidad nutricional y la aceptabilidad de los productos vegetales.

Esta revisión analizará cómo se ha utilizado la fermentación de proteínas vegetales para producir productos alternativos de origen vegetal y destacará las lagunas en la comprensión de los procesos moleculares que ocurren durante la fermentación. Se analizará el conocimiento actual sobre cómo ocurren procesos moleculares como la proteólisis y la formación de exopolisacáridos durante la fermentación de productos lácteos, antes de relacionarlo con los sistemas de origen vegetal para comparar las diferencias entre ambos. Esto ayudará a demostrar por qué el desarrollo de alternativas lácteas de origen vegetal ha enfrentado dificultades para imitar los perfiles de sabor y textura de los productos lácteos, y destacará posibles vías para mejorar los productos de origen vegetal.

PROCESOS DE FERMENTACION

| Nombre de la especie | Tipo de bacteria | Tipo de fermentación | Presente proteínasa de la envoltura celular | Papel principal en la fermentación láctea |
|--|------------------|----------------------|---|---|
| <i>Lactobacillus helveticus</i> ^a | Termófilo | Homofermentativo | Prh2 (común a todas las cepas), Prh, Prh3, Prh4 | La mayoría de las especies de LAB proteolíticas se utilizan comúnmente en la fermentación de productos lácteos. |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> ^b | Termófilo | Homofermentativo | PrtS | Producción de EPS en yogur |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ^c | Termófilo | Homofermentativo | PrtB | Proteólisis en el yogur |
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> ^d | Mesófilo | Homofermentativo | PrtP | Desarrollo de compuestos de sabor en el queso |
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ^d | Mesófilo | Homofermentativo | PrtP | Acidificación rápida mediante la conversión de lactosa en ácido láctico. |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ^e | Mesófilo | Heterofermentativo | n / A | Produce sabores complejos y agujeros en el queso mediante la producción de CO ₂ y diacetilo. |

Estos ácidos grasos libres pueden ser compuestos de sabor en sí mismos y son, lo que es más importante, precursores de compuestos de sabor como metilcetonas, alcoholes, lactonas y ésteres [para una revisión, consulte. Sin embargo, las lipasas provienen principalmente de fuentes microbianas distintas de las BAL y no se analizarán con más detalle en esta revisión. Para un resumen de las características fermentativas importantes de algunas especies de BAL comercialmente relevantes en la industria de productos lácteos fermentados.

Sistema proteolítico

Debido a la capacidad limitada de las LAB para sintetizar aminoácidos y a las cantidades insignificantes de aminoácidos libres y péptidos disponibles presentes en la leche, las LAB de la leche requieren un sistema proteolítico eficaz para crecer. Las proteinasas de la envoltura celular son las serinas proteasas grandes y multidominio que catalizan el primer paso de este proceso, en el que las proteínas

grandes se descomponen en péptidos. Se han descrito muchas proteinasas de la envoltura celular diferentes, que varían en tamaño, especificidad para caseínas y dominios presentes. Estas se designan como enzimas PrtX, donde X corresponde a la proteinasa de la envoltura celular específica. Algunas especies expresan la misma proteinasa de la envoltura celular; por ejemplo, *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* y *Lc. lactis* subsp. *lactis* expresan PrtP. *Lactobacillus helveticus* expresa cuatro enzimas PrtH diferentes, y la mayoría de las otras LAB expresan solo una proteinasa de la envoltura celular única. Estas son secretadas de la célula y ancladas a la membrana celular, lo que asegura que la proteólisis ocurra cerca de la célula y permite un transporte posterior eficiente. El dominio catalítico contiene el sitio activo, compuesto por tres residuos de aminoácidos (serina, histidina y ácido aspártico) que están altamente conservados entre. La proteinasa de la envoltura celular de *Lc. lactis* subsp. *lactis*, PrtP, degrada las caseínas en péptidos que van de 4 a 30 aminoácidos, sin que se detecten dipéptidos ni tripéptidos, y solo se detectan trazas de fenilalanina en el análisis de aminoácidos libres. Un sistema de transporte de permeasa de oligopéptidos (Opp) transporta los oligopéptidos a través de la membrana celular, mientras que un sistema de transportadores ligados a iones (DtpT) y transportadores ABC (Dpp) transporta los dipéptidos y tripéptidos producidos. Una vez transportados a la célula, los oligopéptidos se descomponen primero en péptidos más pequeños por las endopeptidasas intracelulares, aminopeptidasas (PepN y PepC) y la X-prolil dipeptidil aminopeptidasa (PepX). Los péptidos más pequeños generados se descomponen posteriormente por dipeptidasas y tripeptidasas en aminoácidos individuales. Estos aminoácidos se descomponen posteriormente en compuestos orgánicos volátiles, algunos de los cuales son responsables de los sabores característicos de los productos lácteos.

Representación general del sistema proteolítico de las bacterias lácticas. La proteína es degradada inicialmente por la proteinasa de la envoltura celular (CEP). Los sistemas Opp, Dpp y DtpT transportan péptidos de diferentes tamaños al interior de la célula. Las proteasas intracelulares PepX, PepN y PepC catabolizan péptidos de mayor tamaño en dipéptidos y tripéptidos. Las dipeptidasas (DP) y las

tripeptidasas (TP) degradan los dipéptidos y tripéptidos en aminoácidos libres (AAG). Una amplia gama de enzimas catabólicas degradan posteriormente los AAG en compuestos orgánicos volátiles (COV).

Proteólisis en alternativas de origen vegetal

Los sistemas proteolíticos de las LAB y su función en la leche de vaca son bien conocidos. Por el contrario, muy poca investigación ha definido cómo estos mismos sistemas funcionan en las proteínas de los alimentos de origen vegetal. Hasta la fecha, la investigación se ha centrado principalmente en la soja, considerada hasta hace poco una de las alternativas vegetales más utilizadas a los productos lácteos.

Las diferencias en las estructuras de las proteínas vegetales y lácteas implican que la abundante investigación sobre la proteólisis en la leche de vaca no se puede aplicar directamente a la leche de vaca. Las principales proteínas de la leche de vaca son las caseínas, que representan alrededor del 80 % de la proteína de la leche de vaca. Las caseínas son una familia de fosfoproteínas flexibles que comprenden las caseínas α_{s1} , α_{s2} , β y κ . Forman micelas grandes en la leche debido a la agregación hidrofóbica de las proteínas, y las caseínas κ con carga negativa forman la parte exterior de la micela. Las enzimas P_{rt} se clasifican en dos tipos según su capacidad para descomponer las caseínas: las enzimas P_I degradan principalmente β -caseínas, mientras que las P_{III} pueden degradar α_{s1} -, β - y κ -caseínas en un grado similar. Las enzimas P_{III} también tienen una especificidad más amplia para la β -caseína que las enzimas P_I. La alta abundancia de residuos de prolina en las caseínas conduce a una estructura secundaria abierta y desordenada, lo que las hace altamente susceptibles a la hidrólisis por las proteinasas de la envoltura celular. Por el contrario, la mayoría de las proteínas vegetales son menos accesibles a las proteasas, debido a que son proteínas grandes, milimétricas y globulares que se pliegan en estructuras ordenadas y compactas. Esto se debe a los enlaces disulfuro, efectos hidrofóbicos, fuerzas electrostáticas, enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals presentes. A continuación se presentan ilustra algunas de las diferencias clave entre las proteínas de caseína y algunas proteínas vegetales seleccionadas para resaltar

cómo la proteólisis se facilita en las proteínas de la leche que en las proteínas vegetales. Investigaron la relación entre la digestibilidad de las proteínas y su contenido de lámina β en proteínas de legumbres, cereales, carne y leche y encontraron que la digestibilidad tenía una fuerte relación inversa con el contenido de lámina β . Esto se debe a las características hidrofóbicas de estas estructuras, que también las hacen propensas a la agregación tras la desnaturalización. Como muchas proteínas vegetales, especialmente las proteínas globulares, tienen un alto contenido de lámina β , esto contribuye a la baja digestibilidad de estas proteínas. No se han descrito en la literatura proteínas vegetales que posean estructuras micelares flexibles análogas a la caseína, lo que dificulta imitar las características y la estructura de los productos lácteos con productos de origen vegetales.

Estructura y nivel de hidrólisis de proteínas vegetales y lácteas seleccionadas.

| Fuente | Proteína | Tipo de proteína | %No estructurado | %Estructura lámina β | Peso molecular (kDa) | % Residuos de prolina | Hidrólisis por LAB |
|----------|-----------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------------|------------------------|---|
| Lácteos | α _{s1} -caseína | Flexible | 33 ^a | 20 ^a | 23,6 ^b | 8,5 ^c | Alguna hidrólisis en regiones <u>hidrófilas</u> |
| | α _{s2} -caseína | Flexible | 9–34 ^a | 23–32 ^a | 25.2b | 4.8 ^c | P _{III} hidrólisis solamente ^d |
| | β-caseína | Flexible | 4–80+ ^a | 0–34 ^a | 24 ^b | 16,7 ^c | Hidrólisis extensa ^{de} P _I y P _{III} |
| | κ-caseína | Flexible | 23–24 ^a | 35–40 ^a | 19b | 11,8 ^c | Algunas hidrólisis por enzimas P _I , P _{III} y PrtH ^d |
| | β-lactoglobulina (suero de leche) | Globular | 18–35 ^e | 49–57 ^e | 18.4b | 4,9 ^c | Poca hidrólisis ^d |
| Soja | β-conglicinina | Globular | 14,4 ^f | 45,6 ^{pies} | 150–200 ^a <u>C.</u> | 5,4 ^{gramos} | Hidrólisis razonable de las subunidades α _s y α _{s'} , cierta hidrólisis de la subunidad β ^h |
| | Glicinina | Globular | 16,5 ^{pies} | 47,3 ^{pies} | 300–380 ^a <u>C.</u> | 4,3 ^{gramos} | Alguna hidrólisis de la subunidad A, muy poca hidrólisis de la subunidad B. |
| Guisante | Vicilin | Globular | - | 30 ^f | 150 ^b | 4,4 ^{gramos} | No probado |
| Maíz | Zeína | Prolamina | - | - | 19–24 ^b | 10,1 ^{gramos} | No probado |
| Trigo | α/β-gliadina | Prolamina | - | - | 30–45 ⁱ | 15–20 ^{yo} | Algunas hidrólisis por 8 especies de LAB seleccionadas ⁱ , hidrólisis extensiva por iniciadores de masa madre ^k . |

Sin embargo, la caseína presenta varias similitudes clave con las prolaminas vegetales, las proteínas de almacenamiento de las semillas de los cereales, como la zeína (presente en el maíz) y las gliadinas (presentes en el trigo), tienen un peso molecular similar, poseen altas proporciones de residuos de prolina, están relativamente desordenadas y forman espontáneamente grandes estructuras funcionales en sus sistemas biológicos nativos. Algunas investigaciones sugieren que la gliadina y los péptidos derivados de la gliadina son sustratos adecuados para las proteinasas de la envoltura celular. Las proteinasas de la envoltura celular de ocho especies diferentes de BAL fueron capaces de hidrolizar las gliadinas del trigo.

Una proteínasa de la envoltura celular aislada de *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, una de las LAB dominantes en la fermentación de la masa madre, Mejora la proteólisis de las gliadinas en comparación con las caseínas, y que una dipeptidasa y aminopeptidasas aisladas de *F. sanfranciscensis* tiene una fuerte afinidad por los péptidos hidrofóbicos liberados de las gliadinas. Sin embargo, la aplicación de las proteínas prolaminas en las bebidas vegetales puede ser limitada, debido a su papel en el desencadenamiento de la enfermedad celíaca y su baja solubilidad en agua. A pesar de esto, la similitud en algunas características estructurales de las prolaminas con las caseínas significa que estas proteínas y otras prolaminas de cereales menos comunes merecen una mayor investigación como sustratos potenciales para las proteinasas de la envoltura celular.

También se ha estudiado la capacidad de las proteinasas de la envoltura celular para hidrolizar proteínas globulares, principalmente de la soja. Se ha demostrado que la actividad proteolítica en la bebida de soja está correlacionada con la tasa de crecimiento bacteriano en la bebida de soja para ocho especies diferentes de BAL, y las proteinasas de la envoltura celular de varias especies de BAL fueron capaces de hidrolizar proteínas de bajo peso molecular de la soja en diversos grados. demostraron la evidencia de proteólisis en el extracto de guisante después de la fermentación con BAL. Comparación de la proteólisis por LAB de tipo salvaje *Streptococcus thermophilus* en comparación con un *S. thermophilus* mutante en el que se había eliminado la enzima PrtS mostró una proteólisis mucho más extensa por el tipo salvaje, y el crecimiento de la población del tipo salvaje fue tres veces mayor ($2,7 \times 10^8$ UFC/ml para el mutante en comparación con $7,6 \times 10^8$ UFC/ml para el tipo salvaje). Las principales proteínas de la soja son la β -conglícinina, un trímero formado por subunidades α -, α' - y β -, y la glicínina, un hexámero con cada subunidad que comprende un polipéptido ácido y básico, unidos por un enlace disulfuro. LAB puede hidrolizar estas proteínas en diversos grados dependiendo de la cepa. Para la mayoría de las cepas de LAB, la β -conglícinina se descompone de manera más efectiva que la glicínina, siendo las subunidades α y α' generalmente el sustrato más preferido para la mayoría de las cepas analizadas, con un promedio de 46% y 38% de estas subunidades

hidrolizadas, respectivamente, y la subunidad básica de glicinina es la fracción menos degradada para todas las cepas con solo un promedio de 13% de esta subunidad hidrolizada. La identificación de los péptidos producidos por diferentes cepas de LAB muestra que la especificidad para las proteínas de soja difiere entre las cepas de LAB. El posible sitio de escisión en la proglicinina de la soja se ha dilucidado mediante cristalografía de rayos X, mostrando que las subunidades proteicas se descomponen principalmente a través de sitios de escisión en la superficie de la proteína, probablemente debido a la accesibilidad. Se ha demostrado que en la soja se produce una mayor descomposición de péptidos en aminoácidos y compuestos orgánicos volátiles, pudiendo detectarse compuestos relacionados con la leucina, la isoleucina y la fenilalanina/tirosina tras la fermentación de la soja con LAB.

Las proteínas de la leche han sido bien estudiadas como fuente de péptidos bioactivos, que a menudo se encuentran en productos lácteos fermentados con LAB. Los péptidos bioactivos son péptidos, generalmente de 3 a 20 aminoácidos de longitud, que tienen beneficios definidos para la salud, como impactos positivos en los sistemas nervioso, digestivo, inmunológico y cardiovascular o propiedades anticancerígenas. También se ha demostrado que la fermentación de proteínas vegetales produce péptidos bioactivos. Por ejemplo, se encontró que la fermentación de soja con *Lactocaseibacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus* y *S. thermophilus* produce péptidos antihipertensivos; Las concentraciones de lunasina, un péptido con propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes, aumentaron cuando se fermentaron harinas integrales de trigo, soja, cebada, amaranto y centeno con bacterias de ácido láctico; y se produjeron péptidos antioxidantes a partir de varias harinas de cereales después de la fermentación con bacterias de ácido láctico.

Aunque los estudios mencionados anteriormente han demostrado que las proteínas vegetales pueden descomponerse mediante los sistemas proteolíticos de las BAL, esto se ha demostrado ampliamente en la soja y la comprensión de la base mecánica de la proteólisis es limitada. Dado que la proteólisis es uno de los

procesos clave de formación de sabor y textura en la fermentación, una mejor comprensión del proceso en una gama más amplia de sustratos proporcionaría información clave sobre cómo mejorar la fermentación de alimentos de origen vegetal en alternativas lácteas de origen vegetal más viables comercialmente. La β -conglucina, la proteína de soja hidrolizada con mayor eficacia por las BAL, es una proteína globulina 7S. Por lo tanto, otras proteínas globulinas 7S, como las vicilinas del guisante, pueden ser candidatas prometedoras para una proteólisis exitosa por las BAL, ya que tienen una estructura y una solubilidad similares. Las prolaminas de los cereales también son un candidato interesante para el cual no se ha investigado la proteólisis por las BAL en el contexto de las alternativas lácteas de origen vegetal. Se han realizado importantes investigaciones sobre la proteólisis de gliadinas por bacterias lácticas en el campo de la masa madre. Sin embargo, estas investigaciones se han centrado a menudo en el cribado de cepas de masa madre para la degradación del gluten y, con frecuencia, no investigan el mecanismo hidrolítico subyacente. Cabe destacar que la degradación de prolaminas por bacterias/hongos de la masa madre aumenta significativamente su solubilidad, superando la barrera de insolubilidad de las prolaminas y mejorando su funcionalidad potencial.

Comprender la especificidad y accesibilidad de las proteinasas de la envoltura celular hacia las proteínas vegetales sería una forma valiosa de mejorar la estructura de los productos fermentados, mientras que más investigaciones sobre los metabolitos posteriores, como los compuestos orgánicos volátiles producidos, ayudarían a mejorar el sabor de las alternativas de origen vegetal. El uso de LAB aisladas de fuentes vegetales fermentadas existentes, como aceitunas, chucrut, kimchi y tempeh, también puede ser una estrategia útil para comprender mejor la acción de los sistemas proteolíticos de LAB hacia las fuentes vegetales, ya que estos sistemas proteolíticos pueden estar mejor adaptados a las proteínas vegetales. Por ejemplo, las cepas de LAB aisladas de verduras encurtidas han demostrado actividad proteolítica extracelular. El uso de estas cepas, o cepas aisladas de fuentes similares, para fermentar productos lácteos de origen vegetal puede resultar en una proteólisis más efectiva de las proteínas vegetales que el uso

de cepas aisladas de fuentes lácteas como se ha utilizado comúnmente hasta ahora.

Metabolismo del azúcar

Un aspecto importante de la fermentación es la producción de ácido láctico a partir de azúcares. El ácido láctico se produce a partir de la glucosa, que en la leche de vaca proviene de la lactosa. En el primer paso de la producción de ácido láctico, la molécula de azúcar se transporta a través de la membrana y se fosforila, luego, en el caso de los disacáridos, se hidroliza en unidades de monosacáridos. El monómero de glucosa luego se descompone en ácido láctico; en algunas especies de LAB, el otro monosacárido (por ejemplo, galactosa de la lactosa) también puede metabolizarse. El isómero de lactato producido varía entre las especies de LAB, dependiendo de los niveles de l -lactato y d -lactato deshidrogenasa expresados por la LAB.

Las LAB que producen principalmente ácido láctico se describen como homofermentativas, mientras que las que también producen etanol, ácido acético o dióxido de carbono se describen como heterofermentativas. Las LAB homofermentativas pueden producir teóricamente dos moles de lactato por cada mol de glucosa. La mayoría de los cultivos iniciadores en la industria láctea son LAB homofermentativas, ya que los otros subproductos de las LAB heterofermentativas pueden introducir sabores indeseables al producto. En las vías homofermentativas, los azúcares se convierten en piruvato a través de la vía de Embden-Meyerhoff-Parnas, que luego se convierte en ácido láctico por la lactato deshidrogenasa. Las LAB heterofermentativas producen solo un ácido láctico por glucosa, así como otros subproductos a través de la vía de la fosfoacetolasa. Este proceso es particularmente importante para la acidificación del producto, ya que la producción de ácido láctico es responsable de la caída del pH observada durante la fermentación.

En una comparación de yogures vegetales comerciales (soja, coco, anacardo, almendra y cáñamo) y yogur lácteo comercial, encontraron que ninguno de los yogures vegetales tenía una concentración tan alta de ácido láctico como el control lácteo. La concentración más alta estaba en el yogur de soja con 0,43/100 g, en

comparación con 1,11/100 g en el yogur lácteo. Esto sugiere que la fermentación fue más efectiva con el sustrato de lactosa que con los sustratos vegetales en estos productos. Los productos vegetales en su mayoría tenían reguladores de acidez añadidos para disminuir el pH a un nivel similar al del control lácteo. La capacidad de las diferentes especies de BAL para convertir azúcares en ácido láctico en sustratos vegetales varía. Cuatro cepas de *Lactobacillus acidophilus* pudieron crecer con niveles significativos de producción de ácido láctico en leche de soja, y otras cuatro cepas pudieron crecer después de la suplementación con azúcar adicional, mientras que cuatro cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* no pudieron utilizar eficazmente la sacarosa y por lo tanto exhibieron un crecimiento deficiente en leche de soja, incluso cuando se suplementaron con azúcar adicional.

Las bebidas vegetales suelen contener altos niveles de α -galactósidos, como la rafinosa y la estaquiosa, que no son digeribles en el intestino y, por lo tanto, pasan al intestino grueso, donde son digeridos por bacterias que contienen la enzima α -galactosidasa. Esto puede provocar gases que causan malestar y flatulencia, lo que puede disuadir el consumo de productos vegetales. Algunas BAL contienen la enzima α -galactosidasa, capaz de descomponer estos azúcares, por lo que la fermentación de productos vegetales puede provocar una reducción de α -galactósidos. Se ha demostrado que una amplia gama de especies de BAL tienen actividad de α -galactosidasa y la capacidad de descomponer la rafinosa y la estaquiosa en la soja, así como en la harina de guisantes y frijoles. Gran parte del azúcar presente en las bebidas vegetales se encuentra en forma de rafinosa y estaquiosa, por lo que la presencia de α -galactosidasas en las BAL les permite crecer de forma más eficaz en un medio vegetal. En el desarrollo de alternativas lácteas fermentadas de origen vegetal, es importante seleccionar LAB que puedan utilizar los azúcares presentes en fuentes vegetales y que expresen α -galactosidasa, tanto para la aceptación del producto por parte del consumidor como para la viabilidad del crecimiento de las LAB.

Formación de exopolisacáridos

Los exopolisacáridos son generados por algunas LAB durante el proceso de fermentación y han sido identificados como componentes clave para desarrollar un sabor y una textura deseables en productos lácteos fermentados. Los exopolisacáridos pueden mejorar la textura de los productos lácteos al interactuar con otros componentes de la leche, como proteínas y grasas, para formar una gran red en todo el sustrato, actuando como texturizantes y espesantes para reducir la sinéresis y aumentar la viscosidad y la rigidez. Los exopolisacáridos imparten cualidades deseables a los productos lácteos en concentraciones mucho más bajas que los polisacáridos comerciales que se añaden comúnmente durante la producción. Son responsables del cuerpo firme, la cremosidad y una superficie brillante en los productos lácteos fermentados, debido a la unión del agua y la interacción con las proteínas.

La estructura y propiedades de los exopolisacáridos pueden variar ampliamente. Los exopolisacáridos pueden ser homopolisacáridos, que consisten en un solo tipo de unidad de monosacárido, o heteropolisacáridos, que consisten en dos o más unidades de monosacáridos diferentes. Los homopolisacáridos son relativamente simples de sintetizar y requieren poco gasto de energía. Por lo general, se sintetizan a partir de almidón extracelular y sacarosa, generalmente son grandes ($>10^6$ Da) y se producen en grandes cantidades (hasta 10 gL^{-1}). Los heteropolisacáridos requieren una síntesis más compleja y de mayor consumo de energía, que puede incluir grupos cargados, donde los grupos fosfato o sulfato están unidos a las subunidades de monosacárido, o el ácido glucurónico es parte de la subunidad. Se sintetizan a partir de precursores de nucleótidos intracelulares, suelen estar en el rango de $10^3 - 10^6$ daltons y se producen en cantidades de mg/L^{-1} . Los exopolisacáridos pueden variar en la composición de los bloques de construcción de monosacáridos y en el grado de ramificación presente. La mayoría de las LAB en un contexto lácteo sintetizan heteropolisacáridos sin carga, que generalmente consisten en alguna combinación de glucosa, galactosa, N⁶-acetilgalactosamina y ramnosa.

Exopolisacáridos en bebidas vegetales

Las cepas de LAB productoras de exopolisacáridos se han utilizado eficazmente tanto en la producción, ya que la sensación en boca y la cremosidad impartida por los exopolisacáridos compensan la pérdida de estas características debido a la eliminación de grasa. Las bebidas de origen vegetal tienden a ser mucho más bajas en grasa que la leche de vaca, por lo que el uso de cepas de LAB productoras de exopolisacáridos es importante en la producción de productos de origen vegetal con un perfil de textura deseable.

Las cepas de LAB productoras de exopolisacáridos pueden producir exopolisacáridos en bebidas vegetales y al hacerlo aumentan la viscosidad y disminuyen la sinéresis del producto. *Lactiplantibacillus plantarum* 70810 y *Lacticaseibacillus rhamnosus* 6005 aumentaron el contenido de exopolisacáridos de la bebida de soja fermentada, lo que resulta en un aumento de la viscosidad en comparación con el control. La fermentación de la bebida de lupino puede producir un producto similar al yogur con una concentración de exopolisacáridos comparable a los productos lácteos. Cuando la bebida de lupino fermentada se calentó a temperatura ultraalta, tuvo una mayor concentración de exopolisacáridos, mayor viscosidad y menor susceptibilidad a la sinéresis en comparación con un producto pasteurizado. La bebida de avena fermentada con cepas de BAL productoras de exopolisacáridos muestra una mayor viscosidad en el producto resultante que la fermentada con cepas no productoras de exopolisacáridos. La mayor viscosidad se observa en la bebida de avena con glucosa, que puede utilizarse en la síntesis de exopolisacáridos.

La evidencia sugiere que muchos de los efectos de los exopolisacáridos en los productos lácteos son causados por su interacción con proteínas. Los exopolisacáridos aumentan la firmeza de la red de caseína al interactuar con las proteínas y micelas. A medida que el pH de la leche disminuye durante la fermentación, los exopolisacáridos con carga neutra y negativa interfieren con la coagulación de las proteínas de caseína, que cambian de carga negativa a neutra o positiva al final de la fermentación. Esto conduce a una red de proteínas con mayor

capacidad de retención de agua y, por lo tanto, disminución de la sinéresis y aumento de la viscosidad. La fermentación del concentrado proteico de haba con dos especies de LAB productoras de exopolisacáridos aumenta la viscosidad cuando se enriquece con sacarosa, de una manera que no podría imitarse simplemente combinando el concentrado proteico con dextrano y ácidos orgánicos. La falta de proteólisis determinada por SDS-PAGE y el requerimiento de sacarosa confirman que la textura depende de la producción *in situ* de exopolisacáridos y la interacción de estos con la red proteica. Ningún otro estudio, hasta donde sabemos, ha investigado cómo las texturas de los productos vegetales fermentados se ven afectadas por la interacción entre los exopolisacáridos y las proteínas vegetales. Comprender cómo funcionan estas interacciones permitiría la manipulación de la composición para mejorar la textura de los productos vegetales fermentados.

Pocos estudios han investigado el mecanismo de producción de exopolisacáridos o su estructura. Si bien el contenido de carbohidratos de la leche de vaca se compone casi exclusivamente de lactosa, las fuentes vegetales proporcionan una gama mucho más amplia de sustratos de carbohidratos que varían en sus unidades de monosacáridos, tamaño, estructura, digestibilidad, fermentabilidad y solubilidad. Pueden existir como mono o disacáridos simples (p.ej., fructosa, galactosa, glucosa, sacarosa o maltosa), como oligosacáridos (p.ej., inulina u oligofructosa) o como polisacáridos más grandes (p. ej., fibra dietética). Comprender cómo las LAB utilizan esta amplia gama de carbohidratos ayudaría a entender qué fuentes de azúcar son más capaces de crear exopolisacáridos para brindar la mejor mejora en la textura de los productos vegetales. La falta de investigación en esta área es comprensible, dado que el conocimiento de cómo los exopolisacáridos contribuyen a la textura de los productos lácteos también es limitado, debido a las dificultades para separar, purificar y analizar estos compuestos complejos, pero esta es un área clara donde se podrían lograr avances en la mejora de la textura de las alternativas de base vegetal.

Aplicaciones

La fermentación de bebidas vegetales con LAB puede utilizarse para elaborar productos análogos a los lácteos fermentados, como queso, yogur y bebidas fermentadas. Estos pueden producirse a partir de una amplia gama de bebidas vegetales. Los yogures vegetales tienden a elaborarse a partir de una bebida vegetal definida o una combinación de bebidas y casi siempre son fermentados. Es importante que los yogures vegetales sean fermentados, ya que el yogur se considera una fuente importante de probióticos, por lo que la presencia de cultivos vivos en el yogur vegetal es un aspecto clave que los convierte en un producto "similar al yogur lácteo". Los quesos vegetales, por otro lado, no se consideran una fuente importante de probióticos, y los productos similares al queso a menudo se elaboran sin cultivos. También es más difícil definirlos como elaborados con una bebida vegetal específica, ya que los ingredientes base suelen ser aceites vegetales y/o almidones. Esto hace que el proceso de elaboración del queso vegetal sea menos análogo al de su equivalente lácteo que el del yogur. En el cuadro siguiente se destaca la diferencia en la prevalencia de la fermentación en la producción de queso vegetal en comparación con el yogur. Existen muchos yogures vegetales fermentados diferentes, basados en una amplia gama de bebidas vegetales diferentes, tanto comercializados como publicados en la literatura. Por el contrario, los productos alternativos al queso fermentado son escasos. Solo se pueden encontrar comercialmente unos pocos productos de queso vegetal fermentado, principalmente basados en leches de frutos secos, y algunos más se han desarrollado experimentalmente. La cantidad de productos de queso de origen vegetal que no utilizan la fermentación es mucho mayor, por lo que claramente existe una gran brecha en el conocimiento actual sobre cómo utilizar con éxito la fermentación de la leche de origen vegetal para el desarrollo de alternativas de queso sin lácteos.

Tipos de bebida de origen vegetal que se han utilizado para yogures y quesos fermentados experimentales y comerciales.

| Planta | Marcas de yogur comercial | Marcas comerciales de queso |
|----------|--------------------------------------|---|
| Coco | Oui de Yoplait, Cocoyo, So Delicious | - |
| Cebada | Coda y otros | - |
| Emmer | | - |
| Maíz | - | - |
| Mijo | - | - |
| Avena | Avena, qué delicia | Miyoko's (cheddar) |
| Arroz | Ricera (descontinuada) | - |
| Lupino | Amor | - |
| Guisante | Ripple (en desarrollo) | - |
| Maní | - | |
| Garbanzo | - | Miyoko's (cheddar) |
| Soja | Alpro, Seda, Sojade | - |
| Almendra | Seda, Activia | Kite Hill (queso untable) |
| Anacardo | Proyecto Forager | Savour (feta, ricotta), Vtopian (cheddar añejo, brie, camembert), Treeline (cheddar añejo), RIND (queso estilo francés) |
| Quinoa | - | - |
| Cáñamo | Sojade | - |
| Papa | - | - |
| Chufa | - | - |
| | | |
| | | |

Las tendencias actuales están llevando a los consumidores hacia productos de "etiqueta limpia". Es decir, productos con menos ingredientes e ingredientes que se perciben como "más naturales". La fermentación con BAL ofrece una ventaja en este sentido, ya que puede conferir propiedades deseables a los productos fermentados sin necesidad de añadir ingredientes a la etiqueta. La descomposición de las proteínas en péptidos más pequeños, aminoácidos libres y compuestos orgánicos volátiles puede conferir sabores deseables y posibles beneficios para la salud a un producto sin necesidad de aditivos, y la formación de exopolisacáridos por BAL puede introducir propiedades espesantes. (Aimee R Harper 1, 2022)

VALORACIÓN FÍSICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE LAS BEBIDAS VEGETALES FERMENTADAS

El consumo de bebidas vegetales elaboradas a partir de leguminosas, oleaginosas o cereales ha sido una tendencia en los últimos años, abriendo con ello una nueva vía de utilización de estas materias primas. El mercado de bebidas vegetales presentó un aumento de mercado del 9% (1.6 mil millones de dólares) entre 2017 y 2018, teniendo un aumento del 1% de lanzamientos mundiales entre 2016 y 2015, esto debido a los problemas que se han asociado con el consumo de leche de vaca, como son la intolerancia a la lactosa, alergia a las proteínas de la leche de vaca, problemas de colesterol, así como la elección de vida vegana. Dentro de la gran gama de bebidas vegetales a base de semillas, se encuentra la bebida de soya, que se basa en ser un extracto acuoso del frijol de soya, lo que le permite tener una apariencia y composición similar a la leche de vaca. Si bien, históricamente esta bebida era consumida en países asiáticos de forma artesanal, en las últimas décadas su desarrollo industrial, los avances en procesamiento y una mayor cultura de prevención en salud han expandido su presencia en el mercado alimenticio, llegando a ser la principal bebida consumida regularmente. Diversos estudios han mostrado el cómo esta semilla permite crear una bebida con cantidades de proteína semejantes a las que se tienen en la leche de vaca, así mismo, la soya a diferencia de otras legumbres presenta cantidades aceptables de lisina (2.7% base seca), mejorando la composición nutricional de la bebida.

Tomando como ejemplo la siguiente información de la formulación y análisis de una bebida vegetal, se da a conocer las valoraciones fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales que se emplean en este producto, así asegurando calidad y aceptabilidad para el consumidor

El amaranto, se reconoce como el mejor alimento vegetal para el consumo humano; debido a la calidad de su proteína, por su perfil de aminoácidos esenciales, el contenido de carbohidratos y minerales, hacen que se considere de un alto valor nutricional, permite la elaboración de una gran gama de productos. Cabe mencionar que el amaranto es un pseudocereal poco aprovechado; en los últimos años ha sido redescubierto por todas sus propiedades y beneficios, y el cual sigue sorprendiendo

por su inmenso potencial de uso y nutricional, tanto en grano, como el rendimiento del cultivo, que ha sido denominado un cultivo del futuro. En este tenor el amaranto ofrece a la industria alimentaria mexicana la oportunidad de desarrollar nuevos productos y el mejoramiento de los existentes, aumentar su competitividad internacional con productos innovadores de alta calidad y aprovechar la tendencia mundial al consumo de productos naturales. Económicamente el amaranto tiene además un prometedor potencial de aplicación industrial tanto en la industria de los alimentos como en la elaboración de cosméticos, colorantes y hasta plásticos biodegradables. Otra alternativa de transformación del amaranto además de las ya tradicionales sería utilizar la harina y obtener otros productos de interés del consumidor.

El sésamo, ajonjolí o benne es una planta oleaginosa autógama de semilla aceitosas que pertenece a la familia de pedaliáceas y su nombre científico es *sesamun indicum*. El sésamo contiene casi 19 % de proteína, la cual es rica en triptófano y metionina, un gran porcentaje de vitaminas del tipo B y E, y contiene 5560 % de aceite de excelente estabilidad debido a la presencia de antioxidantes naturales como el sesamolín, el sesamín y el sesamol, además aportan un 85% de ácidos grasos insaturados como el Omega 6 y Omega 9 que ayudan a disolver el colesterol malo, también es rico en calcio y contiene también sus niveles elevados en minerales (como calcio, hierro, fosforo, cromo, magnesio y zinc. Las semillas también aportan gran cantidad de fibras que contribuyen a aumentar la movilidad intestinal. Casi la totalidad del sésamo se exporta sin industrializar, posibles productos derivados del sésamo con potencial exportador serian el aceite de sésamo, el turrón de sésamo (con miel) y balanceados para aves ornamentales.

Actualmente la población presenta problemas de salud; entre los problemas comunes es la intolerancia de la población a la lactosa y los problemas que esta conlleva. De acuerdo con las estadísticas internacionales de salud, mencionan que actualmente existe un porcentaje elevado de la población que presenta intolerancia a lactosa, los grupos más afectados son la población infantil y la población de edad madura. Lo que ha generado como consecuencia para la industria el desarrollo de

fórmulas acordes a las necesidades de la población. En el mercado existen leches deslactosadas, bajas en grasas, enriquecidas e incluso las fórmulas realizadas a partir de materia prima vegetal, denominadas bebidas vegetales las cuales proveen los constituyentes principales de la fórmula láctea. Por lo tanto, las bebidas vegetales son una alternativa para quienes llevan una alimentación vegana o vegetariana.

La evaluación sensorial de una bebida vegetal de amaranto y sésamo será un aporte que apoyará las necesidades de la población que no tolera la lactosa y del uso de los pseudocereales de importancia agronómica. Se utilizó amaranto variedad "Gabriela", precoz, resistente y de buen rendimiento de grano. Esta variedad, ha sido evaluada, desarrollada, cultivada y registrada ante el SNICS, por parte del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala.

Procedimiento estándar de preparación de extractos vegetales

Materia prima: El amaranto y sésamo, pseudocereales base para el desarrollo de este trabajo fueron proporcionados por productores del estado de Tlaxcala, asesorados por el M.C. Roberto Bernal Muñoz profesor-investigador del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala.

Se aplicó un proceso de limpieza y tostado a los granos para posteriormente ser molidos utilizando un molino de cizalla con el objeto de triturar y obtener la harina, la cual fue tamizada para uniformar el tamaño de partícula y homogenizar. Se establecieron tres formulaciones, para la obtención de una leche vegetal de amaranto y sésamo.

Formulaciones para la elaboración de la leche vegetal de amaranto y sésamo.

| Ingredientes | Formulación | | |
|--------------|-------------|----|----|
| | F1 | F2 | F3 |
| Amaranto | 15 | 12 | 16 |
| Sésamo | 10 | 14 | 11 |
| Sacarosa | 7 | 6 | 5 |
| Espicias | 1 | 1 | 1 |

Las claves o codificaciones en el texto quedan citadas como F1, F2 y F3.

Caracterización de la materia prima

Las determinaciones de componentes en la materia prima se hicieron aplicando técnicas estandarizadas para alimentos, por triplicado. Los análisis fisicoquímicos efectuados a la muestra del amaranto, variedad Gabriela y al sésamo, fueron: humedad, cenizas (métodos gravimétricos), determinación para proteína (método Kjeldall), determinación de grasa (método de extracto etéreo), fibra cruda (método Soxhlet).

Determinación de carbohidratos totales: El contenido total de carbohidratos se empleó la técnica fenol-sulfúrico.

Análisis Microbiológicos:

Cuenta de bacterias aerobias se realizó mediante la norma: NOM-092-SSA1-1994, hongos y levaduras se utilizó la norma: NOM111-SSA1-1994.

Desarrollo de la formulación

Se realizaron varias formulaciones, para la obtención de una leche vegetal de amaranto y sésamo, previamente, donde se establecen cantidades de ingredientes para la leche vegetal. Obteniéndose 3 formulaciones finales para elaborar el producto para posteriormente llevar a cabo un análisis sensorial de las formulaciones obtenidas.

Una vez estandarizada la fórmula de leche vegetal, se realizaron análisis fisicoquímicos, de aseguramiento de calidad, evaluación sensorial y vida de

anaquel. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y analizadas por estadísticas básicas.

Preparación de la leche vegetal de amaranto y sésamo

Los ingredientes molidos y pesados fueron mezclados en una licuadora. El líquido obtenido en el proceso de mezclado pasa a través de una coladera con una manta de cielo para llevar a cabo la filtración y eliminar residuos. La bebida preparada fue pasteurizada, el proceso permite lograr la estabilidad microbiológica de la leche vegetal.

Se realizó utilizando un recipiente que contiene la mezcla obtenida anteriormente. La mezcla se mantuvo en constante agitación hasta alcanzar 65°C, luego se dejó enfriar en reposo por 30 minutos manteniéndose herméticamente para evitar el desarrollo de microorganismos termófilos esporulados que pudieran resistir el tratamiento térmico, en el transcurso de esta etapa.

Vida útil

La leche vegetal fue almacenada en un refrigerador a temperatura de 2 – 5°C para su conservación, durante un periodo de 1 a 30 días para observar posibles cambios físicos u organolépticos.

Evaluación sensorial

Las 3 formulaciones de bebida vegetal fueron evaluadas utilizando una escala hedónica de 7 puntos; que va desde gusta mucho hasta disgusta. El panel de degustación fue realizado a 50 personas o jueces no entrenados; mujeres y hombres entre 20 y 50 años, para calificar su nivel de agrado y aceptación general de las formulaciones, en base a los atributos de:

Consistencia: El producto debe cumplir con las especificaciones dependiendo del tipo del que se tratara, en este caso es bebidas tipo

Color: Característico de bebidas denominadas lácteas vegetales.

Olor: Característico de la bebida, sin presentar signo de rancidez u otro olor extraño.

Sabor: Característico de la bebida, sin presentar ningún sabor extraño.

La descripción de la variedad Gabriela se efectuó mediante los descriptores propuestos por el Subgrupo Amaranto del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas a Nivel Nacional, dentro del programa de mejoramiento genético de amaranto, el cual tiene como propósito obtener líneas precoces, resistentes a plagas y enfermedades, uniformes, con acame reducido, secado uniforme y rendidora. Esta variedad presenta un rendimiento de 1.4-3.02 t/Ha. Respecto a la composición de amaranto variedad Gabriela, se muestran los resultados del análisis químico proximal de la evaluación e igual para sésamo, materiales utilizados para la elaboración de la bebida. También se presentan los valores reportados en literatura para amaranto y sésamo (García, 2012 y Johnson, 2001).

Caracterización en porcentaje de la composición de amaranto y sésamo

| Componentes (%) | Amaranto | A.var.Gabriela | Sésamo | Sésamo |
|-----------------------|----------|----------------|--------|------------|
| Humedad | 13.0 | 13.89±0.02 | 5.60 | 6.11±0.1 |
| Cenizas | 3.0 -3.3 | 3.55±0.01 | Nd | 1.12±0.01 |
| Proteína | 12 – 19 | 16.80±0.01 | 19.98 | 18.86±0.11 |
| Extracto etéreo | 6.1- 8.1 | 0.09±0.02 | 38.58 | 37.49±0.02 |
| Fibra cruda | 3.5- 5.0 | 12.56±0.01 | 4.42 | 4.16±0.2 |
| Carbohidratos totales | 71.8 | 48.91±0.01 | 31.6 | 30.7±0.15 |

Los valores para amaranto son acordes con lo reportado en la literatura a excepción de fibra cruda donde el valor es superior, casi cuatro veces más a lo reportado por con relación a carbohidratos el valor es inferior al valor reportado, igual para el valor de extracto etéreo. Posiblemente estas sean las características propias de esta variedad. Respeto a los valores de los componentes para sésamo son similares a lo reportado en la literatura Johnson, 2001.

A continuación se muestra la composición de la bebida vegetal elaborada con amaranto y sésamo con respecto a otra bebida vegetal comercial.

Los datos de la comparación de la bebida vegetal de amaranto con sésamo con respecto a otra bebida vegetal muestran valores comparables entre la bebida vegetal comercial y la de la fórmula para elaborar bebida de amaranto y sésamo, solo el porcentaje de carbohidratos en la muestra analizada es de (68 %) por lo que existe una diferencia de (4.3 %) con respecto al valor de (72.30 %).

Comparación químico proximal de la bebida de amaranto con sésamo con respecto a otra bebida vegetal.

| Componentes (%) | Bebida vegetal comercial * | bebida de amaranto con sésamo |
|-----------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Humedad | 2.29 | 2.95±0.2 |
| Cenizas | 1.09 | 1.32±0.1 |
| Proteína | 5.37 | 5.64±0.01 |
| Extracto etéreo | 5.03 | 4.17±0.02 |
| Carbohidratos totales | 72.30 | 68.0±0.01 |

Los análisis microbiológicos practicados a la bebida vegetal fueron para valorar la carga microbiana y para seguridad de higiene de la bebida vegetal, la cual no muestra presencia de microorganismos, no se observó crecimiento de hongos y levaduras, así como de bacterias aerobias a las 24 y 48 horas. El tiempo de vida útil evaluada para las tres formulaciones almacenadas en refrigeración (2-5°C) en un periodo de 30 días es de 11 días ±1 día, donde se conservan las propiedades de la bebida. (S.A. Arredondo-Herrera1, 2020)

Evaluación sensorial de la bebida vegetal de amaranto y sésamo

La evaluación sensorial de las tres formulaciones de bebida vegetal permite conocer el grado de aceptación. Estas fueron evaluadas de acuerdo con los atributos de color, olor, sabor y consistencia por un grupo de 50 jueces no entrenados. Para la bebida vegetal con clave F1, los atributos de color, olor, sabor y consistencia presentan un nivel de aceptación arriba de 5.1 y este valor se identifica dentro de la escala hedónica como: Me gusta ligeramente.

En el caso de la bebida vegetal identificada como F2, los atributos de color, olor, sabor y consistencia presentan un nivel de aceptación arriba de 6.1 y este valor se identifica dentro de la escala hedónica como: Gusta mucho

Para la bebida vegetal identificada con la clave F3, los atributos de color, olor, sabor y consistencia presentan un nivel de aceptación arriba de 5.1 y este valor se identifica dentro de la escala hedónica como: Me gusta ligeramente.

De forma general, en la fig. 1, se observa una diferencia en aceptación que se obtuvo por parte de bebida vegetal F2, ya que muestra un nivel en aceptación en porcentaje de 40 %, por encima al de las otras formulaciones que son 28% para F1 y 32% para F3.



Evaluación sensorial de aceptación de las tres fórmulas de Leche vegetal, codificadas por F1, F2 y F3.

Evaluación sensorial de aceptación de las 3 formulaciones de la bebida vegetal (F1, F2, F2), utilizando un análisis de varianza, para la siguiente hipótesis:

Se establece que:

Ho: Las formulaciones codificadas como; F1, F2 y F3 de la bebida vegetal presentan el mismo nivel de aceptación.

Ha: Las formulaciones codificadas como; F1, F2 y F3 de la bebida vegetal no presentan el mismo nivel de aceptación.

El análisis de varianza para la variable de aceptación determinó con un nivel de significancia 0.05, que se rechaza la hipótesis nula (Ho) por lo que las medias de la bebida vegetal no son iguales y se acepta la hipótesis alternativa (Ha) deduciendo que en al menos una leche vegetal de una formulación es distinta con un 95% de confiabilidad. Por lo tanto, al realizar una prueba estadística de Fisher (LSD), indica

que, al hacer las comparaciones, la fórmula de la bebida vegetal F2 muestra diferencia altamente significativa con respecto a las fórmulas F1 y F3.

Evaluación sensorial de los atributos de color, olor, sabor y consistencia de la fórmula de bebida vegetal codificada como F2, en referencia a la fórmula de bebida vegetal de orden comercial.

Más adelante se muestran las medias de los puntajes obtenidos de las encuestas evaluadas respecto a los atributos de color, olor, sabor y consistencia de la bebida vegetal codificada como fórmula F2.

Esta formulación cumple con las especificaciones de una bebidas tipo I, acorde a la clasificación, es una bebida ligera, de textura al paladar suave y cremosa, con olor característico y sabor agradable, acorde a la cantidad de azúcar. La bebida contiene harina de amaranto, sésamo, sacarosa y especies en proporción de 12, 14, 6 y 1%. Puntajes obtenidos para los atributos de color, olor, sabor y consistencia de la bebida vegetal F2

| Escala | Color | Olor | Sabor | Consistencia |
|---------------|--------------|-------------|--------------|---------------------|
| 7 | 10*7=70 | 6*7=42 | 6*7=42 | 10*7=70 |
| 6 | 17*6=102 | 12*6=72 | 9*6=54 | 16*6=96 |
| 5 | 15*5=75 | 19*5=95 | 18*5=90 | 12*5=60 |
| 4 | 5*4=20 | 7*4=28 | 5*4=20 | 6*4=24 |
| 3 | 3*3=9 | 6*3=18 | 9*3=27 | 5*3=15 |
| 2 | 0*2=0 | 0*2=0 | 2*2=4 | 1*2=2 |
| 1 | 0*1=0 | 0*1=0 | 1*1=1 | 0*1=0 |
| TOTAL | 276 | 255 | 238 | 267 |
| VALOR | 276/50=5.52 | 255/50=5.1 | 238/50=4.76 | 267/50=5.34 |

De acuerdo con los datos anteriores, se observa, que para la bebida vegetal denominada F2, los atributos de color, olor, sabor y consistencia presentan un nivel de aceptación de 5.18, este valor se identifica dentro de la escala hedónica como: Me gusta ligeramente.

A continuación se muestra las medias de los puntajes obtenidos de las encuestas evaluadas respecto a los atributos de color, olor, sabor y consistencia de la bebida vegetal tipo comercial.

Se observa, que para la bebida vegetal F3, los atributos de color, olor, sabor y consistencia presentan un nivel de aceptación arriba de 4.5 y este valor se identifica entre la escala hedónica como: Me gusta ligeramente y ni gusta ni me disgusta.

Puntajes obtenidos para los atributos de color, olor, sabor y consistencia de la bebida vegetal tipo comercial.

| Escala | Color | Olor | Sabor | Consistencia |
|--------|---------------|------------|------------|---------------|
| 7 | $4*7=28$ | $3*7=21$ | $1*7=7$ | $0*7=0$ |
| 6 | $13*6=78$ | $22*6=132$ | $7*6=42$ | $8*6=48$ |
| 5 | $13*5=65$ | $11*5=55$ | $11*5=55$ | $11*5=55$ |
| 4 | $14*4=56$ | $10*4=40$ | $8*4=32$ | $12*4=48$ |
| 3 | $5*3=15$ | $3*3=9$ | $18*3=54$ | $15*3=45$ |
| 2 | $1*2=2$ | $1*2=2$ | $5*2=10$ | $4*2=8$ |
| 1 | $0*1=0$ | $0*1=0$ | $0*1=0$ | $0*1=0$ |
| Total | 244 | 259 | 200 | 204 |
| Valor | $244/50=4.88$ | $259/50=5$ | $200/50=4$ | $204/50=4.08$ |

La semilla de amaranto variedad Gabriela utilizada en esta investigación es apta para la elaboración de productos alimenticios por poseer características nutritivas superiores a los cereales convencionales, respecto a fibra, proteína y carbohidratos, sin embargo, se requiere hacer más análisis para determinar la proporción de proteína exacta, en base a la composición de aminoácidos, igual para carbohidratos. De acuerdo con la caracterización químico proximal realizados al amaranto y al sésamo se determinó que contienen cualidades nutricionales favorables para el consumidor.

Con respecto a la evaluación sensorial se determinó que la formulación adecuada para la elaboración de la leche vegetal de amaranto y sésamo corresponde a la formulación con clave de identificación F2, la cual tuvo un mayor porcentaje de aceptación con respecto a las otras dos formulaciones. (Flores-Morales A.a, 2019)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aimee R Harper, Et. Al.; 2022; Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria; *Microbial Biotechnology*, 15, 1404–1421. John Wiley & Sons Ltd.

Hu, Y.; Zhang, L.; Wen, R.; Chen, Q.; Kong, B. Rol de las bacterias ácido lácticas en el desarrollo del sabor en alimentos fermentados tradicionales chinos: Una revisión. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022** , 62 , 2741–2755

Heenan, C.N., Adams, M.C., Hosken, R.W. y Fleet, G.H. (2004). “Survival and Sensory Acceptability of Probiotic Microorganisms in a Nonfermented Frozen Vegetarian Dessert”. *Lebensmittel-Wissenschaft u*

N. Bernat Pérez, Desarrollo, caracterización y optimización de productos fermentados a base de licuados vegetales como alternativa a los yogures convencionales, Universidad Politécnica de Valencia, 2013.

N. Bernat, M. Chafer, A. Chiralt y C. GonzalezMartinez, Development of a non-dairy probiotic fermented product based on almond milk and inulin, *Food science*

Medrano AM. Torrico JC. Consecuencias del incremento de la producción de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el altiplano sur de Bolivia. *Cienc Agro J Cienc Technol Agrar.* 2009; 1 (4): 117-123.

Kailasapathy K, Harmstorf I, Phillips M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. *Food Sci Technol-LEB.* 2008; 41: 1317-132

Wenkang Huang, Et. Al Evaluation of the fermentation potential of lactic acid bacteria isolated from herbs, fruits and vegetables as starter cultures in nut-based milk alternatives.

