

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD Y ESTABILIDAD ANTIOXIDANTE DE UN YOGURT FUNCIONAL A BASE DE PROTEÍNA DE NUEZ (*Carya illinoensis*) DURANTE SU VIDA DE ANAQUEL EN REFRIGERACIÓN

E.L. Juárez-Iturriaga^a, E. Mares-Mares^a, G.A. López-Andrade^{b,c}, M.F. León-Galván^{a,b*}

^a Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. ^b Posgrado en Biociencias, División de Ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, ^c Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato Campus Guanajuato. *fabiola@ugto.mx

RESUMEN:

La nuez brinda un equilibrado aporte de grasas, las cuales representan casi dos tercios de su peso (65%), de forma particular la nuez pecanera está incluida en la pirámide nutricional de la guía de alimentos del departamento de agricultura de EE.UU. Junto con la carne, el pescado, los huevos, y las legumbres, dentro del grupo de los alimentos de alto valor proteico, el pecan contiene también vitamina E un poderoso antioxidante vitamínico que previene infecciones cardiacas, algunos tipos de cáncer, el mal de Parkinson y afecciones como cataratas. El yogurt es un alimento funcional ya que contiene diferentes tipos de bacterias lácticas que dan lugar a una serie de productos con unas características diferenciadas de textura, sabor y nutricionales. Por lo que se formuló un yogurt a base de proteína de nuez. El objetivo de este estudio fue con la finalidad de evaluar la actividad y estabilidad antioxidante durante su vida de anaquel en refrigeración.

ABSTRACT:

The nut provides a balanced intake of fats, which account for nearly two thirds of its weight (65%). The pecan tree is included in the nutrition pyramid food guide US Department of Agriculture. Along with meat, fish, eggs, and legumes, within the group of foods high protein, the pecan also contains vitamin E a vitamin powerful antioxidant that prevents heart infections, some cancers, Parkinson's disease and conditions such as cataracts. Yogurt is a functional food since it contains different kinds of lactic acid bacteria which give rise to a series of products with different characteristics of a texture, flavor and nutritional. So a yogurt was formulated based protein nut. The aim of this study was in order to evaluate the antioxidant activity and stability during shelf life under refrigeration.

Palabras clave: antioxidantes, nuez y yogurt.

Keywords : antioxidants, nuts and yogurt.

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

Los péptidos antioxidantes presentes en las proteínas de la dieta pueden limitar el daño oxidativo, tanto en alimentos, como frente a la oxidación de las células del organismo cuando son ingeridos (Vioque, *et al.*, 2005). Una alternativa para la obtención de péptidos bioactivos es la nuez pecanera (*Carya illinoensis*), tiene un contenido proteico aproximadamente del 9%, además es considerado un cultivo con gran potencial nutracéutico (Oro *et al.*, 2008). En productos lácteos, como el yogurt,

las bacterias ácido lácticas (BAL) y las bifidobacterias que están presentes son consideradas como microorganismos probióticos.

Estas bacterias benéficas con potencial antioxidante como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium longum*, son la primera línea de defensa de nuestro cuerpo contra los microorganismos potencialmente dañinos que se inhalan o se ingieren (Vélez, 2001). En el presente estudio se propone la elaboración un yogurt utilizando leche de vaca y leche en polvo descremada, adicionado con harina de nuez desgrasada.

La relación del hombre con los alimentos es vital. Desde los comienzos de la humanidad hay una aventura diaria, indispensable, que es la de buscar sustento. En el siglo XXI se ha superado ya el concepto de dieta adecuada, interpretada exclusivamente como supervivencia y calidad de vida. Hoy se busca promocionar la salud, reducir el riesgo de enfermedad y contribuir a eliminar determinados procesos patológicos. De ahí que haya surgido el concepto de “alimentos funcionales” (Sastre, 2010).

En la actualidad, muchos de los problemas de salud son causados por estrés oxidativo que se produce cuando la exposición a los radicales libres es mayor a lo que las enzimas antioxidantes son capaces de neutralizar. El consumo insuficiente de antioxidantes en la alimentación para compensar ese desequilibrio, puede acelerar el envejecimiento y desarrollar enfermedades crónico – degenerativas (cáncer, hipertensión, obesidad, diabetes, alzheimer, entre otras) (Bray, 2000).

Las proteínas y péptidos con actividad biológica pueden contribuir a reducir el riesgo de padecer enfermedades y mantener un buen estado de salud (Möller *et al.*, 2008). La nuez brinda un equilibrado aporte de grasas, las cuales representan casi dos tercios de su peso (65%). Es un producto natural de alta calidad y de delicioso sabor con altos contenidos de calcio, potasio, fósforo, hierro, vitaminas A, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina) y C, es un excelente proveedor de fibras naturales y de aceites no saturados que el cuerpo requiere, el pecan contiene también vitamina E un poderoso antioxidante vitamínico que previene infecciones cardíacas, algunos tipos de cáncer, el mal de Parkinson y afecciones como cataratas (Madero, 1975).

El yogurt es un alimento funcional ya que contiene diferentes tipos de bacterias lácticas que dan lugar a una serie de productos con unas características diferenciadas de textura, sabor y nutricionales es un alimento suave, viscoso y de sabor propio, con una estructura proteica o gel débil (Temmerman *et al.*, 2003, Hamilton *et al.*, 1999). Los principales cultivos lácteos utilizados para la producción de yogurt son *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, que son microorganismos no mucogénicos consideradas bacterias acidolácticas (Del Rio, 2008). El objetivo general es determinar y evaluar la estabilidad de la actividad antioxidante durante la vida útil de un yogurt a base de proteína nuez (*Carya illinoensis*) almacenado a temperatura de refrigeración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Yogurt natural. Se utilizó leche de vaca obtenida en la División de Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato para la obtención de yogurt y de acuerdo a lo establecido por ASELAN (2014). Nuez (*Carya illinoensis*). Las muestras de semilla de nuez de variedad *Wichita* fueron proporcionadas por el INIFAP, Campo experimental Bajío. La nuez fue sometida a desgrasado por el método Soxhlet según lo reportado por el AOAC (1990).

Formulación del yogurt funcional a base proteína de nuez. La harina de nuez se mezcló con el yogurt natural una proporción al 1, 3, 5 y 7%. Para elegir la mezcla, se realizó una evaluación sensorial con un panel de 10 jueces no entrenados, utilizando una escala hedónica de 9 puntos, donde la calificación máxima es 9 (me gusta muchísimo) y 1 es la mínima (me disgusta muchísimo). Los resultados obtenidos fueron evaluados en el programa de STAT GRAPHICS XVI para el análisis de varianza y comparación múltiple de medias con el método de Tukey.

Determinación de la vida útil sensorial (VUS). Se evaluaron los atributos sensoriales de color, olor, sabor y textura de acuerdo a la metodología propuesta por Hough y Fiszman (2005). Extracción de proteína de origen animal. Se utilizó el protocolo de precipitación y limpieza de proteínas con metanol-cloroformo, y se realizaron algunas modificaciones de acuerdo a Novoa y Sánchez (2011). Extracción de proteína vegetal total. Se realizaron de acuerdo al protocolo establecido por Saravanan y Rose (2004). Se utilizó el método TCA-C (acetona fría con 10% de TCA y 0.07% de β -mercaptoetanol).

Rehidratación de proteína. Las pastillas de proteínas de origen animal y vegetal se re-suspendieron en solución de rehidratación en una relación 1:10. El buffer se realizó con DTT y urea: 8M urea, 0.5% v/v Triton X-100, 0.5% v/v Pharmalyte, 0.2% DTT. La concentración de proteínas totales solubles se determinó mediante el método de Bradford utilizando el kit comercial Protein Assay (Bio-Rad, Hércules, CA, USA) y BSA como estándar.

La proteína total de los ingredientes funcionales se cuantificó utilizando el método de Bradford con el kit Protein Assay de Bio-Rad de acuerdo con las especificaciones del fabricante y al protocolo modificado por León Galván (datos no publicados).

La electroforesis de proteínas e hidrolizados proteicos en Sodium Dodecyl Sulfate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) se realizó de acuerdo con el método reportado por Laemmli, 1970. Digestión enzimática con tripsina de acuerdo al protocolo modificado por Kinter y Sherman (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la elaboración del yogurt se realizaron diferentes formulaciones con distintas concentraciones de harina de nuez, de donde se obtiene que el porcentaje de 3% es el que tiene una mayor aceptabilidad.

Tabla I. Cuantificación de la proteína total de la nuez y del yogurt formulado durante su vida de anaquel a distintos tiempos.

Proteína total	Cantidad
Nuez	47.35 mg de proteína/ g de harina de nuez
Yogurt formulado día 0	4448.28 mg de proteína/ g de yogurt formulado
Yogurt formulado día 12	3734.96 mg de proteína/ g de yogurt formulado
Yogurt formulado día 26	3873.29 mg de proteína/ g de yogurt formulado

Con respecto a los tratamientos de digestión enzimática de proteína de la nuez, como se presenta en la fig. 1 se muestra la digestión enzimática donde se puede observar la presencia de péptidos, tales resultados concuerdan con lo reportado por Ramos (2014) para proteína total.

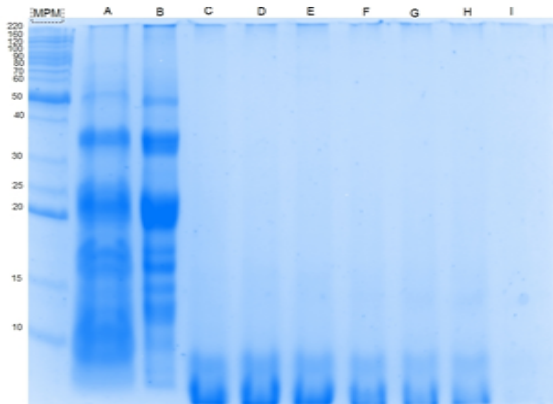


Figura 1 Digestión enzimática de la nuez. Gel de poliacrilamida al 15%. Carril A: proteína total, B: control, C: digestión 15 min, D: digestión 30 min, E: digestión 45 min, F: digestión 1h, G: digestión 2h, H: digestión 3h, I: digestión 4h

Tabla II. Formulación del yogurt. Aceptabilidad general del yogurt con distintos porcentajes de harina de nuez

1%	3%	5%	7%
8.0	9.0	5.0	2.0
6.0	9.0	4.0	6.0
8.0	9.0	6.0	5.0
8.0	8.0	6.0	5.0
8.0	9.0	7.0	5.0
8.0	9.0	7.0	5.0
8.0	9.0	5.0	4.0
6.0	8.0	5.0	5.0
4.0	9.0	5.0	2.0
6.0	9.0	7.0	5.0

De acuerdo a las evaluaciones sensoriales realizadas en el día cero podemos observar que las variables a analizar (olor, sabor, consistencia y color) tienen mayor concurrencia dentro de la escala en me gusta mucho y después de realizar la última prueba sensorial, estas variables siguen centrándose dentro del gusto del público a pesar del incremento de acidez en el producto.

Tabla III. Método: 95,0 Tukey HSD, El análisis estadístico mostró efecto significativo ($\alpha=0.05$) en el porcentaje de la harina de nuez en el yogurt sobre la aceptabilidad sensorial

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	10	4,4	X
3	10	5,7	XX
1	10	7,0	X
2	10	8,8	X

1-1% de Harina de Nuez, 2-2% de Harina de Nuez, 3-5% de Harina de Nuez y 4-7% de Harina de Nuez.

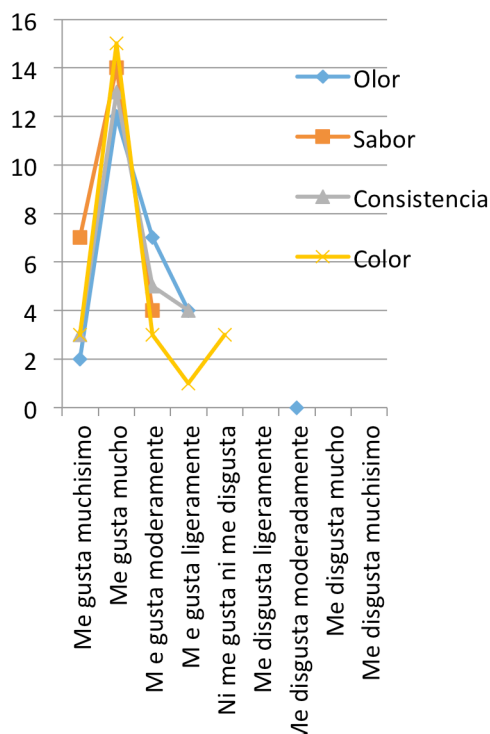


Figura 2 Evaluación sensorial del yogurt formulado en el día 0

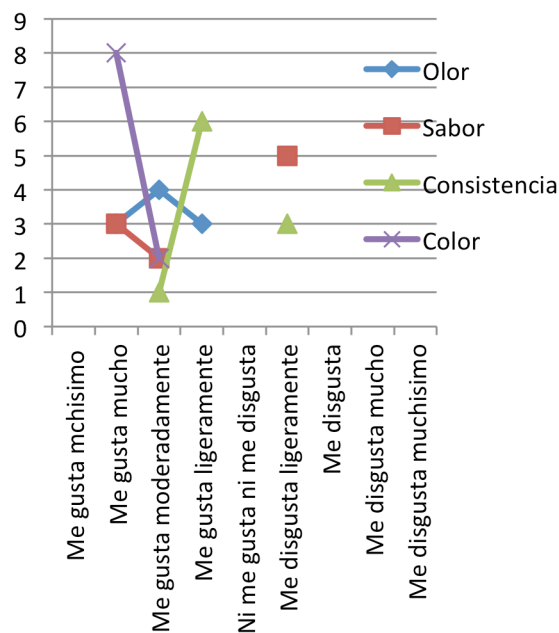


Figura 3 Evaluación sensorial del yogurt formulado en el día 26

En relación a la cuantificación de proteína, se observa una disminución en la contenida en el yogurt formulado ya que esta precipita con la acidez pudiendo ser esta la causante del decremento.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- ASELAC. 2014. Apuntes del curso de Asesoría Láctea (ASELAC). Curso Basico de productos lácteos. Texcoco Edo. México. <http://www.asesorialactea.com.mx/24901/83022.html>
- Bray, TM. 2000. Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. Nutrition; 16:578-81.
- Del Rio, E. 2008. Interaction between carbón nanotubes and biological systems. Tesis de Maestría, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. A.C., San Luis Potosí, México.

- Hamilton-Miller, J.M., Shah, S., Winkler, J.T. 1999. Public health issues arising from microbiological and labeling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public health nutrition*.2, 223-229.
- Hough, G., y Fiszman S. 2005. Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Programa CYTED, 2005.
- Kinter, M. and Sherman, N. E. 2000, Protein sequencing and identification using tandem mass spectrometry. John Wiley & Sons, Inc. pp 161-163.
- Laemmli U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Descripción del método SDS-PAGE. Páginas: 680-685.
- Madero Ernesto., 1975. La nuez pecan. Parana, Buenos Aires. Página: 81 y 82. Disponible en: www.fincalascayras.com.ar/nuezpecan.pdf
- Möller, N.P., Scholz-Ahrens, K.E., Roos N., and J. Schrezenmeir. 2008. Bioactive peptides y proteins from foods: indication for health effects. *Eur J Nutr*.Jun; 47(4): 171-82.
- Novoa-Herrán, S. S. y Sánchez-Gómez, M. (2011). Obtención de un sub proteoma de citoplasma de una línea celular de trofoblasto mediante fraccionamiento con detergentes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 35(136), 277-285.
- Oro, T., Ogliari, P.J., De Mello-Castanho, R.D., Barrera-Arellano, D., and J.M. Block. 2008. Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] acondicionadas en diferentes envases. *Grasas y Aceites*. Abr-jun; 59(2):132-138.
- Saravanan, R.S., and J.K.C. Rose. 2004. A critical evaluation of sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of recalcitrant plant tissues. *Proteomics*. Ago; 4(9): 2522-2532.
- Sastre A.,2010. Alimentos Saludables Y De Diseño Especifico. España: Editorial Reverte
- Temmerman, R., Masco, L., Vanhoutte, T., Huys, G., Swings, J. 2003. Development and validation of a nested-pcr-denaturing gradient gel electrophoresis method for taxonomic characterization of bifidobacterial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6380-6385.
- Vélez, Y.M. 2001. Como combatir la obesidad infantil: 34-35. España: Editorial Medica Panamericana.
- Vioque, J., and F. Millán. 2005. Los péptidos bioactivos en alimentación: nuevos agentes promotores de salud. *Agro CSIC*. 26: 103-107.