

## Desarrollo de una bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751.

M.F. Juárez-Chairez, Y. T. Gallardo-Navarro.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN, Unidad Profesional Adolfo López Mateos Edificio N° 7, Gustavo A. Madero, Lindavista, 07738 Ciudad de México. [deleyva17@hotmail.com](mailto:deleyva17@hotmail.com)

### Resumen

Los alimentos funcionales con mayor aceptación son los productos lácteos adicionados con lactobacilos con propiedades probióticas, sin embargo, existe un sector de la población que desea obtener estos beneficios en matrices no lácteas. En esta investigación se desarrolló una bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 que demostró sobrevivir a las condiciones gastrointestinales simuladas, presentó actividad sal biliar hidrolasa, efecto positivo sobre daño hepático inducido en ratas y en presencia de alfa-tocoferol (1000 mg/L) se estimula su crecimiento. Para el desarrollo de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 se estableció: concentración 11 % p/v almendra-agua, escaldando (almendra) durante 3 min/agua hirviendo, removiendo el tegumento (manual), secado (24 h), molienda (1 min) para obtener harina de almendra, mezclado de dicha harina con agua y lecitina de soya (0.3 %) como emulsificante, doble filtrado, pasteurización (67°C/ 33 min) e inoculación del lactobacilo ( $2 \times 10^8$  UFC/mL). La bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 presentó buena aceptación sensorial, estabilidad en pH y acidez y baja estabilidad coloidal (21 días). *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 se mantuvo viable (28 días).

**Palabras clave:** Alimentos funcionales, bebida de almendra, *Lactobacillus brevis*.

### Abstract

The functional foods with more acceptance are the dairy products added with lactobacilli with probiotic properties, however, there is a part of the population that wishes to obtain this benefits for nondairy sources. This research is focused on developing almond drink added with *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751, which has demonstrated that survives the simulated gastrointestinal conditions, presents hydrolase activity bile salt, has a positive effect on induced liver damage in rats, and showed that in the presence of alpha-tocopherol (1000 mg/L) their growth is being stimulated. For the developing of an almond drink added with *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 an 11 % w/v almond- water concentration was established, blanching the almonds (3 minutes/boiling water), manually peeling, drying (24 h), grinding (1 minutes) to obtain almond flour, mixing almond flour with water and soy lecithin (0.3%) as emulsifier, double filtrate, pasteurization (67°C/33 minutes) and inoculate the lactobacillus ( $2 \times 10^8$  CFU/mL). The almond beverage added with *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 showed good sensory acceptance, pH stability and acidity (21 days), as well as low colloidal stability. *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA- 120751 remained viable (28 days).

Keywords: Functional foods, almond drink, *Lactobacillus brevis*.

## INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la prevención de enfermedades crónicas degenerativas se ha convertido en el foco de interés tanto para la salud pública, la investigación y la tecnología, lo cual ha llevado a la búsqueda de aquellos alimentos capaces de proporcionar beneficios a la salud más allá de su aporte nutricional, esto sin dejar de lado sus atributos sensoriales para tener una buena aceptación a la hora de su consumo. A este tipo de alimentos se les conoce como alimentos funcionales los cuales se caracterizan principalmente por promover un efecto fisiológico de manera específica y positiva en el organismo (Spence, 2006; Olagnier *et al.*, 2007). Los alimentos funcionales con mayor aceptación son los productos lácteos adicionados con lactobacilos con propiedades probióticas, sin embargo, existe un sector de la población que desea obtener los beneficios de los lactobacilos pero en matrices no lácteas, lo cual, se ha dado por la gran cantidad de personas con intolerancia y alergia hacia los productos lácteos, así como aquellos grupos de consumidores que requieren alimentos bajos en azúcar o grasa, e incluso que les disgusta el sabor tradicional lácteo. Debido a lo anterior, se ha observado en el mercado un incremento de bebidas elaboradas a base de cereales o frutos secos tales como las bebidas de soya, arroz, coco y almendra la cual es muy rica en proteínas, ácidos grasos insaturados, fibra, antioxidantes y minerales como el calcio (Font de Valdez *et al.*, 2005; Bernat *et al.*, 2014). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una bebida a base de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 (el cual fue aislado del agua miel y confiere beneficios a la salud). La bebida elaborada puede ser una alternativa para las bebidas probióticas lácteas, dirigida al sector de la población con intolerancia y alergia hacia los lácteos, así como a aquellos grupos de personas que consumen alimentos bajos en azúcar o grasa, asimismo para el sector de la población que no gusta de los alimentos de origen animal como el caso de los veganos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Almendras (variedad Nonpareil), agua purificada, *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 aislado del agave pulquero, lecitina de soya, colorímetro (Colorflex EZ Hunterlab), procesador de alimentos (Nutribullet), agar y caldo MRS (Difco), agar para métodos estándar (Dibico), agua destilada, fenoltaleína, glicerol (J.T. Barker), hidróxido de sodio 0.1 N (Hycel), kit de tinción de GRAM (Hycel), peptona de caseína (BD Bioxon), peróxido de Hidrógeno (Zuum).

Preparación de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751

Se establecieron las mejores condiciones para elaborar la bebida de almendra las cuales fueron: la almendra se escaldó en agua hirviendo por 3 minutos para retirar el tegumento, en seguida se realizó un secado de 24 horas a temperatura ambiente, posteriormente se molió la almendra para obtener harina de almendra por medio de un procesador de alimentos (Nutribullet®), durante 1 min a 25000 rpm, la harina obtenida se mezcló con agua en una concentración de 1:5 almendra-agua (11% p/v) y con 0.3 % de lecitina de soya como emulsificante, se filtró (con manta de cielo y tela organza), se pasteurizó (67 °C/33 minutos) y se inoculó con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 en una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/mL, finalmente se mantuvo en condiciones de refrigeración a 4° C (Vidagany *et al.*, 2005; Bernat *et al.*, 2014).

Estimación de la vida útil de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751

Estabilidad: La bebida se colocó en una probeta estéril de 50 mL (por triplicado) y se mantuvo en condiciones de refrigeración (4°C) durante 21 días, tiempo durante el cual se observaron de manera visual cada 24 h, se registró el volumen en mililitros para el sobrenadante. (Vidagany *et al.*, 2005; Fasolin y Cohana, 2012; Abbasi y Mohammaid, 2013).

pH y acidez: Se midió el pH en las muestras diariamente por 21 días, se utilizó el método estándar de la AOAC 981.12, la acidez titulable se midió por el método estándar de la AOAC 950.15, los resultados para la acidez se expresan en porcentaje de ácido láctico.

Cuenta de células viables: Para realizar la cuenta de células viables realizaron diluciones seriadas (1 X 10<sup>-10</sup>), se tomaron alícuotas de 100 µL de cada una de las diluciones y se sembraron en cajas Petri previamente preparadas con agar MRS (por triplicado) y se incubaron a 37°C durante 24 h, finalmente la cuenta se llevó a cabo por medio de la estimación UFC. La cuenta se llevó a cabo los días 0, 7, 14, 21 y 28 (Reyes *et al.*, 2015).

Color: El color se midió por medio de un colorímetro (Colorflex EZ Hunterlab). El color de las muestras se caracterizó en cuanto a las coordenadas de cromaticidad (CIELAB L \*, a \*, b \*), así mismo, se caracterizó el croma (C\*ab), Tono (h\*ab) e índice de blancura (WI), así como la diferencia de color entre las muestras (ΔE), tal como se define en las siguientes ecuaciones (CIE. 1995):

$$C^*ab = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \dots\dots\dots(1) \quad WI = 100 - \sqrt{[(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]} \dots\dots(3)$$

$$h^*ab = \arctan(b^*/a^*) \dots\dots\dots(2) \quad \Delta E = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]} \dots\dots\dots(4)$$

Evaluación sensorial: Se llevó a cabo con 80 jueces no entrenados para determinar la aceptación general del producto, se utilizó una escala hedónica de 7 puntos, teniendo como punto 1 me disgusta extremadamente y como punto 7 me gusta extremadamente, la aceptabilidad general del producto se determinó mediante la ecuación 5 (Bis, 1971; Dutcosqui, 1996).

$$AF = \frac{A \cdot 100}{B} \dots\dots\dots (5)$$

Caracterización fisicoquímica: Se llevó a cabo en cuanto a los parámetros de humedad, grasa, fibra cruda, proteína, cenizas y carbohidratos totales (NOM-116-SSA1-1994, NMX-F-615-NORMEX-2004, NOM-051-SCFI/SSA1-2010, NMX-F-607-NORMEX-2002, NOM-086-SSA1-1994, NOM-051-SCFI/SSA1-2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Estabilidad:** Como se observa en la Figura 1, la bebida de almendra mostró la separación de 2 fases (sedimento y sobrenadante), dicha separación comenzó a partir del día 3 de almacenamiento presentando un 4 % de sobrenadante, este porcentaje aumentó hasta el día 11 con un 22 %, posteriormente se mantuvo estable hasta el día 15 y finalmente aumento a partir del día 16 a un 24 % para estabilizarse nuevamente al día 21, la velocidad de separación del sobrenadante fue de 0.64 mL sobrenadante/ día. Estos resultados son similares con los reportados por Bernat *et al.* (2014) quienes observaron la separación de fases para una bebida de almendra a partir del día 1 de almacenamiento a 4 °C. Estos autores consideraron que esto ocurrió debido a que las proteínas presentes en las almendras no muestran una adecuada propiedad de emulsificar los glóbulos de grasa en bebidas elaboradas a partir de almendra. Sin embargo, estudios han reportado obtener una mejor estabilidad coloidal para bebidas elaboradas a base de nueces al aplicar tecnologías como la homogeneización a altas presiones junto con un tratamiento térmico, esto es debido a la reducción del tamaño de partícula y la desnaturalización proteica por la aplicación del tratamiento térmico, siendo esta una buena opción para poder obtener una bebida de almendra con mayor estabilidad física durante su vida de anaquel, ya que este es uno de los principales factores de los que depende la calidad física de la bebida (Bernat *et al.*, 2014).

**pH y acidez:** Como se muestra en la Figura 2, el pH se mantiene constante presentando un valor de 6.2, con un ligero incremento en el día 13 (6.3) y en el día 18 (6.5) finalizando en un pH de 6.6 en el día 21. Bernat *et al.* (2014) reportaron un pH de 6.6 para una bebida de almendra y una bebida de avellana, mientras que Champagne *et al.* (2009) obtuvieron un pH de 6.5 para una bebida a base de soya. Por lo anterior, el pH obtenido en el presente estudio es característico de las bebidas vegetales no fermentadas. Asimismo, al ser el pH un punto crítico en la estabilidad de los probióticos durante su almacenamiento, un valor de pH bajo (<3) es uno de los principales factores que reducen la supervivencia de los probióticos durante su almacenamiento en frío (Champagne *et al.*, 2005; Muñoz *et*

al., 2007), de manera que el pH (6.6) obtenido en el presente estudio para la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 fue adecuado para la supervivencia de dicha cepa. En cuanto a la acidez, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 3, en la cual se observa que la acidez, al igual que el pH se mantuvo estable, con un porcentaje de acidez de 0.2 después del día 3 de almacenamiento a 4 °C, lo cual mostró que probablemente el microorganismo no fermentó ningún tipo de azúcar presente en la bebida de almendra ya que un indicador de la fermentación es el incremento en el porcentaje de acidez, como lo reportaron Miridula y Sharma (2015) para una bebida fermentada a base de soya, dicha bebida presentó un porcentaje de acidez inicial de 0.4 y final de 0.9 %. La falta de fermentación en la bebida elaborada en el presente estudio puede ser debido a que las condiciones adecuadas para la fermentación de diversas cepas de *Lactobacillus* en bebidas vegetales fermentadas son generalmente a temperaturas de 37 °C - 42°C, durante periodos de 10-12 horas (Champagne *et al.*, 2009; Firmino *et al.*, 2017; Angelov *et al.*, 2006; Prado *et al.*, 2015), cabe resaltar que en el presente estudio la bebida se mantuvo a 4° C, por lo tanto, no estuvo en las condiciones necesarias para que se llevara a cabo el proceso de fermentación, asimismo, en bebidas elaboradas a base de almendras no formuladas (aquellas a las que no se les han incorporado azúcares) estas tienen un bajo contenido de carbohidratos, lo que afecta directamente el proceso de fermentación, lo que conlleva a bajo porcentaje de acidez (Champagne *et al.* 2009).

**Cuenta de células viables:** *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 se mantuvo viable en una concentración de  $2 \times 10^8$  UFC/mL durante un periodo de 28 días, lo cual es satisfactorio debido a que se considera que se necesita una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/mL de microorganismos viables para que estos alcancen el intestino y puedan ejercer su efecto benéfico (Sanz y Dalmau, 2008). Cabe resaltar que en el presente estudio no se adicionaron ingredientes que pudieran mejorar la viabilidad de *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 ya que se han reportado estudios donde se han incorporado diversos aditivos tales como fructooligosacáridos, inulina u otros compuestos que proveen efectos prebióticos, lo cual incrementó la viabilidad de las cepas utilizadas para la elaboración de bebidas probióticas durante su periodo de almacenamiento (Matta *et al.*, 2012). Con base a lo anterior, la bebida de almendra elaborada en el presente estudio presentó ser un buen medio para la viabilidad de *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751.

**Color:** Los valores de luminosidad, tono, croma e índice de blancura de la bebida de almendra se muestran en la Tabla I, se realizó el análisis estadístico y no se encontró diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en cuanto a los parámetros de luminosidad ( $L^*$ ), croma ( $C^*_{ab}$ ), tono ( $h^*_{ab}$ ) e índice de blancura (WI) para la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 durante su vida de anaquel, asimismo, los valores que se obtuvieron para la diferencia de color ( $\Delta E$ ) son bajos (0.48, 0.18, 0.74), teniendo en cuenta estos se encuentran inferiores a 3 unidades, no pueden ser detectados por el ojo humano (Francis, 1983), de manera que se obtuvo que el almacenamiento (21 días/ 4°C) no afectó el color de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751. Lo anterior es importante ya que los cambios de color durante el almacenamiento de los alimentos suelen relacionarse con la aparición de las reacciones de degradación en el producto, de igual manera, el color de los alimentos es uno de los principales atributos que el consumidor suele juzgar al igual que el olor y el sabor, ya que cualquier cambio en ellos, interviene en la percepción de la calidad y la aceptación del consumidor de los alimentos (Heredia *et al.*, 2013; Codina *et al.*, 2014).

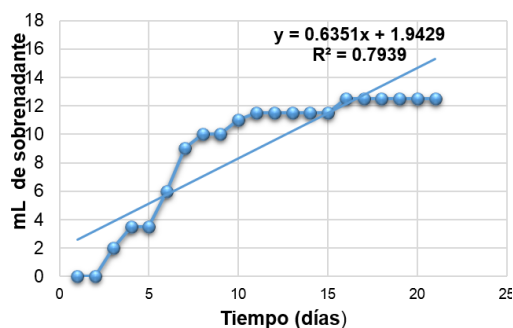
**Evaluación sensorial:** Se estimó la aceptabilidad de la bebida según lo propuesto por Espinosa (2007) y Atalah *et al.* (2008) quienes consideran una media por encima de 3.5 (para una escala hedónica de 7 puntos) para definir un parámetro y/o producto como aceptable. En el presente estudio se obtuvo una media de  $4.36 \pm 1.1$ , esta media se encontró por encima de la propuesta por Espinosa (2007) y Atalah *et al.* (2008), por lo anterior, la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 se consideró aceptable. Asimismo, con base a el factor de aceptabilidad propuesto por Dutcosqui (1996), en el presente estudio se obtuvo un 62.2 % de aceptabilidad general para la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751.

**Caracterización fisicoquímica:** Los valores obtenidos para la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 se muestran en la Tabla II. El aporte de proteína (2.0 g/100 mL) de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 obtenida en este estudio, es mayor en comparación con otras bebidas vegetales tales como una bebida de avellana para la cual se reportó un contenido de proteína 0.65 g/100 mL, una bebida de chufa y mijo para la cual se obtuvo 1.56 g de proteína por cada 100 mL y una bebida de coco para la cual se indicó un contenido de proteína de 0.023 g por cada 100 mL (Bernat *et al.*, 2014; Codina *et al.*, 2014; Prado *et al.*, 2015). Asimismo, el contenido de proteína (2.0 g/100 mL) obtenido en el presente estudio, se encontró por encima del reportado por las bebidas de almendra comerciales como es el caso de Special line® bebida de almendras que reportó la mayor cantidad de proteína con un contenido de 0.8 g de proteína por cada 100 mL, mientras que la bebida que se elaboró en este estudio contiene 2 g de proteína por cada 100 g, es decir un 250 % más. Con base a lo anterior, la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 que se obtuvo en el presente estudio posee un contenido de proteína mayor al reportado por las bebidas vegetales elaboradas en algunos estudios así como al de las bebidas a base de almendras que se comercializan actualmente en el mercado.

**Tabla I.** Valores de Luminosidad ( $L^*$ ), Croma ( $C^*_{ab}$ ), Tono ( $h^*_{ab}$ ) e Índice de blancura (WI) de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 durante su periodo de almacenamiento (21 días).

Día	$L^*$	$C^*_{ab}$	$h^*_{ab}$	WI
1	90.85 <sup>a</sup> ±0.32	9.49 <sup>a</sup> ±0.19	88.36 <sup>a</sup> ±0.42	86.81 <sup>a</sup> ±0.35
7	91.02 <sup>a</sup> ±0.28	9.40 <sup>a</sup> ±0.17	88.56 <sup>a</sup> ±0.21	87.07 <sup>a</sup> ±0.26
14	90.99 <sup>a</sup> ±0.29	9.38 <sup>a</sup> ±0.15	88.66 <sup>a</sup> ±0.18	87.01 <sup>a</sup> ±0.25
21	90.28 <sup>a</sup> ±1.60	8.98 <sup>a</sup> ±0.67	88.33 <sup>a</sup> ±0.73	87.70 <sup>a</sup> ±0.97

Se reportan los valores de las medias ± desviación estándar. Valores que no comparten la misma letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).  $L^*$  = Luminosidad;  $C^*_{ab}$  = cromas;  $h^*_{ab}$  = tono; WI = Índice de blancura.

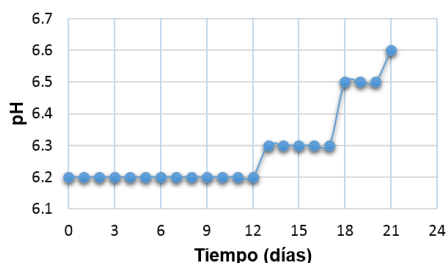


**Figura 1.** Mililitros de sobrenadante de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 durante 21 días en condiciones de refrigeración (4°C).

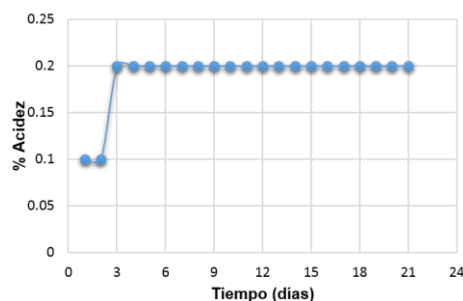
**Tabla II.** Composición química de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751.

Composición	Resultados en g/100mL
Humedad	91.0±0.5
Grasa	5.0±0.2
Fibra cruda	<0.1±0.0012
Proteína	2.0±0.03
Cenizas	0.3±0.012
Carbohidratos totales	2.0±0.05

Se reporta el valor de la media ± desviación estándar.



**Figura 2.** Comportamiento del pH de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 durante 21 días en condiciones de refrigeración (4°C).



**Figura 3.** Acidez de la bebida de almendra adicionada con *Lactobacillus brevis* Lb9H-PTA-120751 durante 21 días en condiciones de refrigeración (4°C).

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi Soleiman and Mohammad Soudabeh. (2013). Stabilization of milk–orange juice mixture using Persian gum: Efficiency and mechanism. *Food Colloids and Rheology*. Tehran, Iran Food Bioscience. 2: 53–60.
- Angelov Angel, Gotcheva Velitchka, Kuncheva Radoslava, Hristozova Tsonka. (2006). Development of a new oat-based probiotic drink. *International Journal of Food Microbiology*. 112: 75–80.
- Atalah S. Eduardo, Vera A Gloria, Rosselot P. Gastón, Araya L. Héctor, Andreu R. Ramón, Alviña W. Marcela, Araya B. Marcela, Vargas P. Vianny, Peñafiel W. Karina, Barba G. Catalina, Pizarro Q. Tito. (2008). Desarrollo, consumo y aceptabilidad de una bebida láctea con DHA para embarazadas y nodrizas. *Rev. Chil. Nutr.* 35 (4):433-442.
- Bernat Neus, Cháfer Maite, Chiralt Amparo, González-Martínez Chelo. (2014). Development of a non-dairy probiotic fermented product based on almond *milk* and inulin. *Food Science and Technology International*. 21(6):440-453.
- BIS. (1971). Guide for sensory evaluation of foods. Manak Bhawan, New Delhi: Indian Standard Institution.
- Champagne C.P., Green-Johnson J., Raymond Y., Barrette J., Buckley N. (2009). Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. *Food Research International*. 42: 612–621.
- Champagne Claude P., Gardner Nancy J., Roy Denis. (2005). Challenges in the Addition of Probiotic Cultures to Foods, *Critical Reviews*. *Food Science and Nutrition*. 45 (1): 61-84.
- CIE. 1995. Industrial colour-difference evaluation. CIE publication, 116. Commission Internationale de l'Éclairage, 492 Vienna.
- Codina Torrella Idoia, Trujillo Mesa Antoni José, Guamis López Buenaventura. (2014). Obtención del proceso de elaboración y aplicación de la homogenización a ultra alta presión como tecnología de conservación de licuado de chufa. (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona.
- Dutcosky, S. D. (1996). Análisis Sensorial de Alimentos. Curitiba. 20 ed. Editora Universitária Champagnat, 123 p.
- Espinosa Manfugás Julia. (2007). Evaluación sensorial. Ciudad de la Habana, Cuba. Editorial Universitaria. 129 P.
- Fasolin Luiz Henrique, Cunha Rosiane Lopes. (2012). Soursop juice stabilized with soy fractions: a rheological approach. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 32(3): 558-567.
- Firmino Dourado Costa Kassia Kiss, Soares Soares Manoel Júnior, Rodrigues Rosa Sarah Inabes, Caliari Marcio. (2017). Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice by products during cold storage. *LWT - Food Science and Technology*. 78: 23-30.
- Font de Valdez; Taranto, M. P.; Médici, M.; Molina, V. (2005). Aplicación de bacterias lácticas en nuevos alimentos funcionales. *Agrociencia*. 9 (1 y 2): 373–377.
- Francis FJ. (1983). Colorimetry of foods. In: Pelef M, Baglet EB (Eds.) *Physical properties of foods* AVI Publishing Westport. 105-124.
- Heredia F. J., González-Miret M. L., Melendez- Martínez A.J., Vicario I.M. (2013). Instrumental Assessment of the sensory quality of juices. *Wood Head Publishing series in Food science technology and nutrition*. 565-609.
- Matta, C. M. B., Jurkiewicz, C., Kunigk, L., & Roson, B. M. (2012). Influence prebiotics and flour integral oats in survival probiotic bacteria in the drink symbiotic rice base. *Alimentos e Nutrição*. 23:55-63.

- Mridula D., and Sharma Monika. (2015). Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legume and soy milk. *LWT-Food Science and Technology*. 62: 482-487.
- Muñoz Hernández Loreto Andrea, Witting de Perma Emma, Gotteland Martin, Abugoch James Lilian. (2007). Diseño y evaluación de una bebida funcional en base a cranberry prebiótico y probiótico. (Tesis de maestría). Universidad de Chile.
- Norma oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales.
- Norma oficial mexicana NMX-F-527-1992. Alimentos. Determinación de sólidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua.
- Norma oficial mexicana NMX-F-607-NORMEX-2002. Alimentos. Determinación de cenizas en alimentos. Método de prueba.
- Norma oficial mexicana NMX-F-615-NORMEX-2004. Alimentos. Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos. Método de prueba.
- Norma oficial mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. Información comercial y sanitaria.
- Norma oficial mexicana NOM-116-SSA1-1994: Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico, mediante método por arena o gasa.
- Norma oficial mexicana NOM-218-SSA1-2011. Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Olagnero Gabriela, Abad Andrea, Bendersky Silvia, Genovois Carolina, Granzella Laura, Montonati Mara. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Dieta Buenos Aires*. 25: 20-33.
- Prado Camargo Flávera, De Dea Lindner Juliano, Inaba Juliana, Soccol Vanete Thomaz, Kaur Brar Satinder, Carlos Ricardo Soccol. (2015). Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits *journal of functional foods*. 12: 489–497.
- Reyes L.A., Espinoza, Y.R. y Villalobos-López, M.A. (2015). Estudio y aislamiento de lactobacilos con actividad sal biliar hidrolasa a partir del aguamiel mediante un modelo gastrointestinal in vitro. (Tesis de doctorado). Instituto Politécnico Nacional.
- Sanz Y. y Dalmau J. (2008). Los probióticos en el marco de la nueva normativa europea que regula los alimentos funcionales. *Acta Pediátrica Esp*. 66 (1): 27-31.
- Spence Joseph T. (2006). Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: S4–S6.
- Vidagany Marti Adolfo, Ortiz Martínez Isabel, Aracil Miralles Ma. Carmen, Pérez Martínez Gaspar. (2005). Patente de invención “Producto fermentado sin lactosa a partir de batido de frutos secos no legumbres y/o horchata”. España patente ES 2335783T3.