

Desarrollo de una bebida fermentada vegetal basada en soja, xoconostle y kéfir

P. A. Salazar-Amador, F. J. Acevedo-Luna, M. Bustos-Dueñas, y E. Mares-Mares*

Instituto Tecnológico Superior de Guanajuato. Coordinación de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Carr. Guanajuato-Puentecillas Km 10.5 Col. Puentecillas. Guanajuato, Gto. emares@itesg.edu.mx

RESUMEN: Con el fin de ampliar los usos tradicionales de la soja (*Glycine max*) y xoconostle (*Opuntia joconostle*) y de proporcionar nuevos productos alimenticios más saludables y nutritivos, se desarrolló una bebida fermentada a base de kéfir para combatir los problemas de intolerancia a la lactosa. El objetivo de este estudio fue desarrollar una bebida novedosa fermentada con kéfir a base de extracto acuoso de soja y saborizada con mermelada de xoconostle sin azúcar. Obtenido el fermento de la soja con kéfir, la bebida fue saborizada con mermelada xoconostle (árbol de azúcar). Posteriormente, la proteína total se extrajo y se hidrolizó con tripsina. Los hidrolizados se analizaron mediante SDS-PAGE y LC-MS / MS para la identificación de péptidos bioactivos. La capacidad antioxidante se determinó mediante el método del radical DPPH y, finalmente, se calculó la calidad de la proteína mediante el método PDCAAS. Esta bebida contiene 9,71 g de proteína (en 250mL). Hubo presencia de péptidos antioxidantes (18,77%). Se observó que 500 µg / ml de hidrolizados mostraron una capacidad antioxidante de 44,49 µmol mol / TE. En conclusión, esta bebida es una excelente fuente de proteínas y antioxidantes.

Palabras clave: Bebida, soja, intolerancia-lactosa.

ABSTRACT: In order to expand the traditional uses of soy (*Glycine max*) and xoconostle (*Opuntia joconostle*) and to provide new, healthier and more nutritious food products, a fermented kefir-based beverage was developed to combat the problems of lactose intolerance. The aim of this study was to develop a novel beverage fermented with kefir based on aqueous extract of soy and saborized with xoconostle Jam (sugar free). Obtained the ferment of soy with kefir, the drink was flavored with xoconostle Jam (sugar tree). Subsequently, the total protein was extracted and hydrolyzed with trypsin. The hydrolysates were analyzed by SDS-PAGE and LC-MS/MS for the identification of bioactive peptides. The antioxidant capacity was determined by the DPPH radical method and finally, the protein quality was calculated by the method of (PDCAAS). This beverage contains 9.71g of protein (in 250mL). There was presence of antioxidant (18.77%) peptides. It was observed that 500ug/mL of hydrolysates showed an antioxidant capacity of 44.49 µmol TE/g. In conclusion, this drink is an excellent source of protein and antioxidants.

Keywords: Beverage, soy, lactose intolerance.

Área: Desarrollo de nuevos productos

INTRODUCCIÓN

Dentro de los alimentos funcionales de origen vegetal, por sus propiedades nutraceuticas se destaca la soja (*Glycine max*). La cual posee un alto contenido proteínico (37g de proteína en 100g de semilla) y un bajo de perfil de ácidos grasos saturados. Aunado a su uso, con el empleo de bacterias probióticas fermentativas, es posible tener como resultado un alimento multifuncional (Bozanic *et al.*, 2017), ya que en las tendencias actuales los probióticos mejoran y dan conservación a la salud digestiva manteniendo un peso saludable del consumidor y se ha comprobado el efecto de su consumo en la prevención de enfermedades crónicas degenerativas (Santillán *et al.*, 2014). Por otra parte, el xoconostle tiene efectos hipoglucémicos para el control de diabetes y colitis, ayuda en la pérdida de peso corporal por medio de la disminución del colesterol y es un laxante natural (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2014).

En la actualidad las fuentes vegetales como la soja están dirigidas a la población que no puede digerir alimentos de origen animal (principalmente la población que padece intolerancia a la lactosa) y a grupos de consumidores de alimentación selectiva (Por ejemplo, Vegetarianos) (Bozanic *et al.*, 2017).

El cambio en la percepción alimenticia ha propiciado con el paso del tiempo alimentos funcionales que por su capacidad proporcionan nutrientes y beneficios a la salud (Soria *et al.*, 2017).

Debido a que 8 de cada 10 consumidores padecen intolerancia a la lactosa en cualquiera de sus niveles de severidad (ENSANUT, 2016), una bebida tipo yogurt podría ser la solución para satisfacer los requerimientos nutricionales. La solución y propuesta de innovación en este proyecto, es una bebida que está elaborada a partir del extracto acuoso de soja, la cual se fermentó con granos de kéfir (previamente estandarizando la fuente de glucosa para ser fermentable) y se saborizó con una base de xoconostle baja en azúcar (tipo mermelada con pectina de bajo metoxilo). En el mercado no existen bebidas funcionales tipo yogurt a base de soja y que utilicen el xoconostle como ingrediente saborizante. Más aún, este vegetal es endémico de México y no se ha utilizado en el procesamiento y elaboración de bebidas. Actualmente solo existe una línea de bebidas de soja de la marca ADES y en una tienda local naturista "Vida y Salud" se comercializa un yogurt espeso de soja en \$132.35 el litro. Los productos "veganos" en el mercado presentan una elevación en el precio para los consumidores de este grupo alimenticio. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una formulación de bebida fermentada vegetal (sin lactosa) a base de soya, xoconostle y kéfir y determinar sus características nutrimentales y funcionales (capacidad antioxidante).

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación de la bebida fermentada

La presente formulación se realizó empíricamente y bajo la aceptación sensorial de jueces no entrenados. Se utilizó extracto acuoso de soya, kéfir (cultivo láctico) y mermelada no calórica de xoconostle como saborizante. Se verificó la innovación de la bebida de acuerdo a la revisión bibliográfica de las patentes similares WO/2018/103118, JP2011167190, CN1644112 y PL2249655 obtenidas en las plataformas ESPACENET PATENT RESEARCH y PATENTSCOPE (2018). Por cuestiones de propiedad del Instituto Mexicano de Propiedad Intelectual (IMPI) no se indican las cantidades de los ingredientes y la descripción del proceso fermentativo (Imagen jurídica de Proceso Tecnológico).

Evaluación sensorial

Para la aceptabilidad general, se realizó una evaluación sensorial con un panel de 100 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).

Determinación de la calidad proteica y etiquetado nutrimental

Obtenidas las cantidades de los ingredientes, se empleó el método del Puntaje Químico Corregido por la Digestibilidad Verdadera (PDCAAS) (Bautista., 2013). Consultando los valores lisina, triptófano, treonina y aminoácidos azufrados para el extracto de soya y el xoconostle de acuerdo con los lineamientos propuestos por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Organizaciones de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS/WHO). El etiquetado nutrimental (frontal y reverso) se realizó de acuerdo a las normas oficiales mexicanas NOM-SSA1-086-1986 y NOM-SCFI-051-2010

Obtención de proteína total e hidrolisis enzimática

La extracción de la proteína total se realizó por el Método de TCA-C (10% de Ácido Tricloroacético con 0.07% de 2-Mercaptoetanol en acetona fría), de acuerdo con el protocolo establecido por Savaran y Rose (2004). Obtenida la pastilla de proteína total, se resuspendió en buffer PBS pH 7.5 y se sometió a digestión con tripsina en una relación 1:50 (p/p, tripsina: proteína) a pH 8.0 (ajustando con NaOH al 1N) durante 16 horas a 37°C.

Determinación de la capacidad antioxidante

Previamente se cuantificaron y llevaron a una concentración de 500 µg/mL de hidrolizados enzimáticos de tripsina de la bebida fermentada (mediante el método de Lowry). Para capacidad antioxidante del hidrolizado, se utilizó la técnica de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) descrita por Brand-Williams (1995), se utilizó 1.95 mL de la disolución de DPPH 0.1 mM y 0.05 mL del hidrolizado, leyendo la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm, cada 10 minutos hasta completar 60 minutos. El resultado fue expresado en miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de proteína (mg ET/g P).

Identificación de péptidos antioxidantes (Espectroscopia de masas)

El hidrolizado enzimático de tripsina se analizó en un sistema SYNAP-NanoUPLC (Waters Co.). Los péptidos fueron identificados utilizando las plataformas bioinformáticas de MASCOT y BIOPEP

Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron por triplicado. Los resultados fueron expresados como la Media \pm Desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El producto formulado con extracto de soya, kéfir y xoconostle mostró una aceptabilidad del 77% bajo el criterio de “me gusta muchísimo” en la evaluación sensorial (Figura 1). De acuerdo con el análisis *In silico* para la calidad proteica (PDCAAS), se determinó que contiene todos los aminoácidos esenciales ya que el puntaje químico de la proteína es de 103% (Tabla I). Con respecto al valor nutricional (Figura 1), una porción de 250 mL del producto bebible aporta 9.71 g de proteína, equivalente a un 18% de la Ingesta Diaria Recomendada (FAO, 2018). Así mismo, la bebida es baja en sodio (6% de IDA).

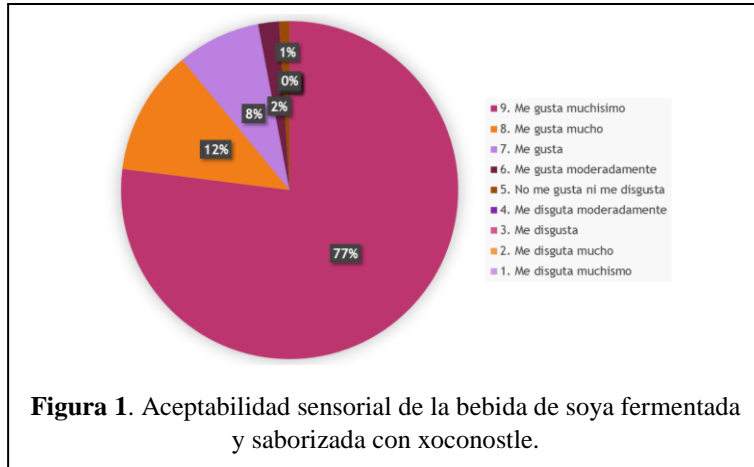


Figura 1. Aceptabilidad sensorial de la bebida de soya fermentada y saborizada con xoconostle.

Tabla I. Puntaje Químico Corregido por la Digestibilidad Verdadera de la bebida fermentada (Calidad Proteica).

Ingrediente	Cantidad (g)	Proteína	Lisina	Acid. Azúcares	Treonina	Triptófano	Factor de Digestibilidad	Proteína (g)	Lisina	ASS	Treonina	Triptófano
		g/100g		mg/g de proteína				g	mg	mg	mg	mg
Soja	38.000	69.810	28.340	42.180	14.000	0.950	30.400	2122.224	861.536	1282.272	425.600	
Xoconostle	1.000	40.000	0.000	48.000	8.000	0.800	0.200	8.000	0.000	9.600	1.600	
					Totales		30.600	2130.224	861.536	1291.872	427.200	
Aminoácidos mg/g de proteína								69.6152	28.154771	42.21804	13.9608	
Patrón de referencia en mg/g proteína para adult		58	25	34	11							
Puntaje de aminoácido de la mezcla								1.20026	1.1261908	1.241707	1.26916	
Promedio de la digestibilidad de las proteínas						0.915						
Puntaje ajustado por la digestibilidad									103.04646			

Tabla II. Péptidos antioxidantes en el hidrolizado proteico de la bebida fermentada

Frecuencia de Ocurrencia	Secuencia	Reporte
18.77	Leu-Leu-Pro-His-His; Val-Asn-Pro-His-Asp-His; Gln-Asn; Leu-Val-Asn-Pro-His-Asp; His-Gln-Asn; Leu-Leu-Pro-His-His	Wangy González de Mejía, 2005; Chen <i>et al.</i> , 1995

Con respecto a la capacidad antioxidante se determinó que el hidrolizado triptico de la proteína total de la bebida, a una concentración de 500µg/mL mostró una capacidad inhibitoria del radical DPPH de 44.49 µmol ET/g P. En la Tabla II, se muestran las secuencias de los 6 peptidos con mayor frecuencia de ocurrencia y que poseen actividad antioxidante. Los peptidos Leu-Leu-Pro-His-His, Val-Asn-Pro-His-Asp-His, Gln-Asn, Leu-Val-Asn-Pro-His-Asp, fueron reportados por Wangy González de Mejía, 2005 y los péptidos His-Gln-Asn; Leu-Leu-Pro-His-His por Chen *et al.*, (1995).

El producto formulado es destinado a un público en general, a excepción de aquellos que presenten alergia a los componentes de la soya. Así como personas intolerantes a la lactosa y las proteínas de la leche (alergia total o parcial). Población con tendencias definidas en el consumo de alimentos (Ej. Veganos y vegetarianos). Población de 12 años en adelante de nivel socio económico medio-alto y sexo indistinto.

Etiquetado frontal

Grasas saturadas 23 kCal	Otras grasas 0 kCal	Azúcares 51 kCal	Sodio 111 mg	Energía 286kCal
11%	0%	14%	6%	14%

% de los nutrimentos basados en una dieta de 2000 kCal

Información Nutricional

Tamaño de la porción: 250mL
Porciones por envase 1

Cantidad por porción	% del Valor Diario*
Energía (286kcal)	14%
Proteína (g)	18%
Carbohidratos (g)	
De los cuales:	
Fibra Cruda	
Fibra Dietética	
Azúcares	14%
Lípidos (g)	
De los cuales:	
Grasas saturadas	11%
Grasas monosaturadas	
Grasas polinsaturadas	
Grasas Trans	
Colesterol	0%
Minerales	
Sodio (mg)	6%
Calcio (mg)	42%

* Valor de diario recomendado del nutriente basado en una dieta de 2000kcal según recomendaciones de la FAO/OMS y a la NOM-051-SFCI/SSA-2010

Etiquetado Reverso

Figura 2. Etiquetado nutrimental de la bebida fermentada de soya y xoconostle (NOM-SSA1-086-1986 y NOM-SCFI-051-2010).

CONCLUSIÓN

La bebida formulada presentada en esta investigación tiene un nivel de madurez de desarrollo (TRL) “Nivel 4 – Desarrollo tecnológico (Validación de componentes o sistema en un ambiente de laboratorio)” de acuerdo al Consejo Nacional de ciencia y Tecnología. Como esfuerzo de negocio se ha diseñado el producto que cumple con la normativa de etiquetado (NOM-051) y declaración nutrimental (NOM-086) para su venta. A nivel de laboratorio se han realizados pruebas fisicoquímicas y bromatológicas para comprobar su alto valor nutrimental. De su proteína, *in vitro* se ha demostrado el potencial antioxidante del producto formulado (Prueba del radical DPPH) y se identificaron mediante LC-MS/MS los péptidos con potencial antioxidante. Lo anterior permitirá en futuras investigaciones considerar a la bebida un alimento funcional.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Bozanic, R., Lovkovic, S. and Jelacic I. (2017). Fermentation of Soymilk with Probiotic Bacteria. *Technology and Biotechnology University of Zagreb. Food Technology and Biotechnology journal* 56(2), 135-137.
- Brand, W. W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 1(28), 25-30.
- Chen, H.M., Muramoto, K., & Yamauchi, F. (1995). Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β -conglycinin. *J Agric Food Chem.*, 43, 574-578. <http://dx.doi.org/10.1021/jf00051a004>
- FAO. (1985). Necesidades de energía y de proteínas. Informe de una reunión consultiva Conjunta. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40157/1/WHO_TRS_724_\(part1\)_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40157/1/WHO_TRS_724_(part1)_spa.pdf).
- Gallegos-Vázquez, C., Scheinvar, L., Silos-Espino, H., Fuentes-Hernandez, A., Martínez-González, C. (2014). ‘Sainero’: nueva variedad de xoconostle para la región centro norte de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(6), 1125-1131. Santillan
- Saravanan, R. S, and Rose, J. K. (2004). A critical evaluation of sample extraction techniques for enhanced proteomics analysis of recalcitrant plant tissues. *Journal Proteomics*; 4: 2522–2532
- Soria, M. (2017). Elaboración de yogurt a base de soya enriquecido con quinoa y camote. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3(2), 410-416.
- Urquiza, E., Méndez-Rojas, M. Y Vélez-Ruiz, J. (2014). Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 8(1), 5-14.
- Wang, W., & González de Mejía, E. (2005). A New frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 4, 63-76. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1541-4337.2005.tb00075.x>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).(1981). Contenido en Aminoácidos de los Alimentos y datos Biológicos sobre las Proteínas. Revisado en <http://www.fao.org/docrep/005/AC854T/AC854T00.htm#TOC>