



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

ITM

**“Efecto de la adición de *Moringa oleifera* y *Salvia hispanica L.*, en  
la composición química y biológica de un yogurt durante su  
almacenamiento”**

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:  
GETSEMANI LÓPEZ GEA

ASESOR:  
DR. VICTOR MANUEL TOLEDO LÓPEZ

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

10 DICIEMBRE 2019





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Mérida

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

DEPENDENCIA: DIV. DE EST. DE POSG. E INV.

No. DE OFICIO: X-425/19

Mérida, Yucatán, **11/noviembre/2019**

**ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

**GETSEMANI LÓPEZ GEA**  
**PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS**  
**Y BIOTECNOLOGÍA**  
**PRESENTE.**

De acuerdo al fallo emitido por su director **Víctor Manuel Toledo López**, codirectora Maira Rubí Segura Campos y la comisión revisora integrada por Víctor Manuel Moo Huchin, María de Lourdes Vargas y Vargas, considerando que cubre los requisitos establecidos en el Reglamento de Titulación de los Institutos Tecnológicos le autorizamos la impresión de su trabajo profesional con la TESIS:

**"EFECTO DE LA ADICIÓN DE MORINGA *Oleifera* y *salvia hispanica* L. EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y BIOLÓGICA DE UN YOGURT DURANTE SU ALMACENAMIENTO"**

**ATENTAMENTE**  
Excelencia en Educación Tecnológica

**DANIEL ARCÁNGEL LÓPEZ SAURI**  
**JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE**  
**POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

C.p. Archivo  
DALs/fja



S.E.P.  
INSTITUTO TECNOLÓGICO  
DE MERIDA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



SEP Instituto Tecnológico de Mérida, Km.5 Carretera Mérida-Progreso A.P 911

C.P. 97118 Mérida Yucatán, México, Tels. 964-50-00, Ext. 12601 y 12602

e-mail: [depi\\_merida@tecnm.mx](mailto:depi_merida@tecnm.mx) <http://www.itmerida.mx>



## Índice

CAPITULO I.....	1
1.1 INTRODUCCIÓN .....	1
1.2 MARCO TEÓRICO.....	3
1.2.1 Leche y productos lácteos.....	3
1.2.2 Yogurt.....	5
1.2.3 Proceso de elaboración general del yogurt .....	7
1.2.4 Cultivos iniciadores .....	11
1.2.5 Generalidades de las bacterias ácido-lácticas .....	11
1.2.5.1 Clasificación de las bacterias ácido-lácticas .....	12
1.2.6 Metabolismo de las bacterias ácido-lácticas en el yogurt.....	13
1.2.7 Consumo global del yogurt.....	17
1.2.8 Generalidades de la <i>Moringa oleifera</i> .....	17
1.2.9 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de <i>Moringa oleifera</i> .....	20
1.2.10 Aplicaciones de <i>Moringa oleifera</i> en la industria alimentaria .....	22
1.2.11 Generalidades de la Chía ( <i>Salvia hispanica L.</i> ).....	24
1.2.12 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la Chía .....	26
1.2.13 Aplicación de la Chía en la industria alimentaria.....	27
1.2.14 Compuestos bioactivos .....	30
1.2.15 Radicales libres y antioxidantes .....	30
1.2.16 Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante .....	31
CAPITULO II .....	33
2.1 HIPOTESIS .....	33
2.2 OBJETIVOS .....	33

2.2.1 Objetivo general.....	33
2.2.2 Objetivos específicos .....	33
CAPITULO III .....	34
3.1 ESTRATEGIA DE TRABAJO .....	34
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.2.1 Ingredientes no lácteos.....	35
3.2.2 Preparación del yogurt .....	35
3.2.3 Preparación del extracto acuoso.....	36
3.2.4 Determinación de pH y acidez titulable.....	36
3.2.5 Composición química proximal .....	37
3.2.6 Actividad antioxidante <i>in vitro</i> .....	39
3.2.7 Compuestos fenólicos totales.....	40
3.2.8 Cuento microbiano de bacterias lácticas viables .....	40
3.2.10 Método colorimétrico cadmio-ninhidrina para el ensayo de péptidos.....	40
3.2.11 Análisis Estadístico.....	41
CAPITULO IV .....	42
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	42
4.1.1 Cambios de pH y contenido de ácido láctico (%) durante la fermentación láctica y almacenamiento de un yogurt enriquecido. ....	42
4.1.2 Composición química proximal y análisis sensorial.....	46
4.1.3 Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante <i>in vitro</i> durante el tiempo de almacenamiento. ....	48
4.1.4 Viabilidad de bacterias ácido lácticas y concentración de péptidos durante el tiempo de almacenamiento. ....	51
4.2 CONCLUSION .....	54
REFERENCIAS .....	55

ANEXOS.....	70
Materia prima y productos finales .....	70
Materia prima.....	70
Producto Final .....	70
Escala hedónica de 9 puntos .....	71
Curvas patrón.....	71
Curva patrón de Ácido Gálico para determinar CFT .....	71
Curva patrón de Leucina para determinar concentración peptídica.....	72

## Índice de Tablas

Tabla 1 Composición química de la leche .....	3
Tabla 2 Composición de vitaminas en la leche .....	4
Tabla 3 Composición química del yogurt .....	6
Tabla 4 Composición de vitaminas del yogurt.....	6
Tabla 5 Investigaciones de diferentes ingredientes no lácteos adicionados al yogurt .....	10
Tabla 6 Producción de compuestos de carbonilo ( $\mu\text{g} / \text{g}$ ) por cultivos iniciadores de yogur .....	14
Tabla 7 Fracciones nitrogenadas solubles de la leche y leche cultivada con los microorganismos del yogurt (Tamime & Robinson, 2007). .....	16
Tabla 8 Composición de nutrientes de Moringa en base seca (Muchenje et al., 2018). .....	19
Tabla 9 Composición nutricional de la hoja de Moringa (100g/material vegetal).....	19
Tabla 10 Compuestos bioactivos encontrados en la hoja de Moringa en extracto metanólico.....	21
Tabla 11 Aplicaciones funcionales de la Moringa en algunos productos alimenticios (Saucedo et al., 2018).....	23
Tabla 12 Compuestos bioactivos presentes en la semilla de Chía. ....	26
Tabla 13 Contenido de polifenoles en extracto de semillas de Chía (mg/g).....	27
Tabla 14 Aplicaciones funcionales de la Chía en algunos productos alimenticios.....	28
Tabla 15 pH y porcentaje de ácido láctico con el aumento de solidos lácteos .....	44
Tabla 16 Composición proximal del yogurt con ingredientes no lácteos .....	46
Tabla 17 Especificaciones fisicoquímicas del yogurt según la NOM-181-SCFI-2010 .....	46
Tabla 18 Evaluación sensorial de yogures adicionados con ingredientes no lácteos.....	47
Tabla 19 Escala hedónica .....	71

## Índice de Figuras

Figura 1 Diagrama del proceso de elaboración de yogur (Hernández, 2003).....	9
Figura 2 Funciones de los cultivos lácticos en los alimentos.....	11
Figura 3 Ruta metabólica de las bacterias ácido-lácticas.....	12
Figura 4 Tipos de ácido láctico.....	14
Figura 5 Partes del árbol de <i>Moringa oleifera</i> .....	18
Figura 6 Diferentes usos de la Moringa en la industria (Velázquez et al., 2016).....	18
Figura 7 Planta y semilla de <i>Salvia hispanica</i> L.....	24
Figura 8 Tipos de compuestos bioactivos.....	30
Figura 9 Tipos de antioxidantes.....	31
Figura 10 Ejemplos de compuestos fenólicos (Peñarrieta et al., 2014).....	32
Figura 11 a) pH b) Porcentaje de ácido láctico. Cambios de pH y porcentaje de ácido láctico del yogur adicionado con los ingredientes no lácteos durante la fermentación.....	43
Figura 12 a) pH b) Porcentaje de ácido láctico Cambios de pH y acidez del yogur adicionado con ingredientes no lácteos durante el almacenamiento.....	45
Figura 13 Contenido total de polifenoles durante el almacenamiento de yogur adicionado con ingredientes no lácteos.....	48
Figura 14 Actividad antioxidante durante el almacenamiento de los yogures adicionados con ingredientes no lácteos por el método ABTS.....	50
Figura 15 Actividad antioxidante durante el almacenamiento de los yogures adicionados con ingredientes no lácteos por el método DPPH.....	50
Figura 16 Cambios en el conteo de bacterias ácido-lácticas durante el almacenamiento de los yogures adicionados con ingredientes no lácteos.....	52
Figura 17 Concentración de péptidos durante el tiempo de almacenamiento de los yogures tratados durante el almacenamiento a 4°C.....	53
Figura 18 Curva patrón equivalente a ácido gálico.....	71
Figura 19 Curva patrón de Leucina.....	72

## **Índice de Diagramas**

Diagrama 1 Concentraciones de ingredientes no lácteos empleadas en el estudio.....	34
Diagrama 2 Proceso general de la elaboración del yogurt .....	34
Diagrama 3 Análisis realizados durante el almacenamiento de los productos en estudio. ....	34

## CAPITULO I

### 1.1 INTRODUCCIÓN

El yogur es uno de los productos lácteos más comunes y consumidos en gran parte del mundo; se obtiene al fermentar la leche entera o reconstituida con bacterias ácido lácticas; según la Norma Oficial Mexicana el yogur se define como “un producto obtenido de la fermentación de leche estandarizada o no por medio de la acción de microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, y teniendo como resultado la reducción de pH (NOM-181-SCFI-2010, 2010). Asimismo, es un producto que ayuda a mejorar el ambiente gastrointestinal, reduciendo las posibles bacterias perjudiciales presentes en el intestino tales como las bacterias del grupo *Bacteroides* y *Prevotella*; especialmente *Bacteroides vulgatus* la cual está relacionada con provocar enfermedades inflamatorias intestinales (Díaz & Rubio, 2016). En cuanto a la vida útil de este producto, en la industria normalmente la fecha de duración es establecida por el productor, junto con las normativas que están fijadas en las normas de calidad; normalmente, la vida útil del yogur es de 21 a 25 días en almacenamiento; para poder determinar la vida útil de un yogur, se llevan a cabo una serie de análisis a lo largo del tiempo y bajo diferentes condiciones del alimento (Revenga, 2013). El yogur se puede clasificar por sus componentes en simple o natural y en saborizado o con fruta, independientemente de su presentación (NOM-181-SCFI-2010, 2010). De acuerdo con lo reportado, el yogur es fuente de calcio, aporta elevada cantidad de proteínas y una mínima pero constante cantidad de fósforo, magnesio, potasio, zinc, yodo y vitaminas como la A, D, B<sub>2</sub> y B<sub>12</sub> (Díaz & Rubio, 2016); sin embargo, carece de compuestos fenólicos y además tiene contenidos relativamente bajos en ácidos grasos esenciales (Caleja et al., 2016) . En este sentido, diversos autores han sugerido la incorporación de ingredientes no lácteos basados en plantas, semillas o frutas para fortalecer o enriquecer al yogur (Caleja et al., 2016). Se ha reportado el uso de polvo de oliva verde para mejorar las características de calidad del yogur, donde los autores mencionan que el uso de este polvo incrementa el contenido de sólidos del yogur, por lo que aumenta la viscosidad del producto, debido a la cantidad de fibra que posee la oliva (Cho, Yeon, Hong, & Kim, 2017) (Yu et al., 2016) (Jiménez et al., 2000). También se ha mencionado que el uso de extractos de plantas o hierbas durante el tiempo de fermentación en la elaboración del yogur, mejora la actividad metabólica de las bacterias del yogur, por lo que el pH disminuye debido al incremento de la producción de ácidos orgánicos por las bacterias ácido-lácticas; en este estudio se usaron hierbas tradicionales de Corea del Sur (Joung et al., 2016) (Amirdivani & Baba, 2011), otro

ingrediente no lácteo reportado para el uso en el yogur es la soya, la cual proporciona una mejora en la viabilidad bacteriana del ácido láctico; así mismo mejoró la actividad antioxidante durante el tiempo de almacenamiento (Shori, 2013) (Alenisan, Alqattan, Tolbah, & Shori, 2017). En la actualidad, hay más interés en el uso de compuestos bioactivos que provienen de fuentes prácticas, económicas y naturales como plantas, semillas o frutos; un ejemplo de estos compuestos son los antioxidantes, minerales, vitaminas, etc. (El-Said, Haggag, Fakhr El-Din, Gad, & Farahat, 2014)

La *Moringa oleifera* y la Chía (*Salvia hispanica L.*) son alimentos naturales que proporcionan beneficios, siendo fuente de proteínas, ácidos grasos esenciales, minerales esenciales y antioxidantes. La Chía y la Moringa tienen alto contenido de antioxidantes, como son los flavonoides y fenoles; estos antioxidantes tienen la capacidad de secuestrar radicales libres que causan oxidación (Leone et al., 2016). El objetivo del presente trabajo fue usar las hojas de Moringa y las semillas de Chía en la fabricación de un yogurt y determinar su efecto durante el almacenamiento.

## 1.2 MARCO TEÓRICO

### 1.2.1 Leche y productos lácteos

Según la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, la leche es definida como: “el producto obtenido de la secreción de las glándulas mamarias de las vacas, sin calostro, el cual debe ser sometido a procesos térmicos u otros tratamientos que garanticen la inocuidad del producto; además, puede someterse a otras operaciones, tales como la clarificación, homogenización, estandarización, siempre y cuando no contaminen el producto y cumplan con las especificaciones de denominación.” El calostro es la leche que se produce a los 7 días del parto del bovino; la leche no puede ser utilizada para la industria, si no han pasado los 7 días después del parto. En México, el tipo de leche más consumida es la de origen bovino, la cual es fuente de vitamina B<sub>12</sub>, A, fósforo y calcio (Hernández & Vélez, 2014). La leche representa una fase grasa y una fase no grasa dentro de sus componentes; dentro de la fase grasa, el 97-98% son triglicéridos, el resto está constituido por fracciones pequeñas de monoglicéridos, diglicéridos, pequeñas trazas de colesterol esterificado, ácidos grasos libres y fosfolípidos (Scott, Combs, & Grummer, 1991). Las sustancias proteicas de la leche se encuentran en estado de dispersión y se dividen en caseínas (80%) y suero proteínas que constituyen el 20% restante. Los carbohidratos de la leche están formados principalmente por lactosa (glucosa + galactosa unidos mediante un enlace glucosídico  $\beta$  (1,4)). Dentro de componentes minoritarios de la leche se encuentran iones inorgánicos (calcio, fosfatos, cloruros, potasio y sodio), ácidos orgánicos y vitaminas hidrosolubles (Pastrana, 2011). En las Tablas 1 y 2 se representa la composición de la leche y la composición del contenido de vitaminas que están presentes en la leche.

Tabla 1 Composición química de la leche

Compuestos (unidad /100 g)	Leche entera	Leche descremada
Calorías	77.5	3.6
Proteínas (g)	3.5	3.3
Grasas (g)	4.25	0.13
Carbohidratos (g)	4.75	5.1
Calcio (mg)	119	121
Fosforo (mg)	94	95
Sodio (mg)	50	52
Potasio (mg)	152	154

Tabla 2 Composición de vitaminas en la leche

Vitaminas (mg /100g)	Leche entera	Leche descremada
Vitamina A	148	-
Vitamina C	1.5	1.0
Vitamina D	1.2	-
Vitamina E	0.13	-

Los productos lácteos son derivados de la leche que tienen como fin de conservarla durante más tiempo como para variar sus formas de consumo (Ministerio, 2015). Algunos de esos productos son:

Leches saborizadas. Eliminación del contenido de agua, dentro de este tipo de leche, están la leche evaporada y la leche condensada azucarada, donde esta última tiene una adición de sacarosa o dextrosa.

Leche en polvo. En este tipo de leche, existe una eliminación parcial de agua, con un máximo de humedad de 3.5% y se puede clasificar según su contenido de materia grasa (entera, parcialmente descremada y descremada).

Dulce de leche. Leche adicionada con azúcar, que se somete a calor para darle un color característico. Un dulce de leche debe tener un aproximado de 25% de sólidos totales como mínimo y no debe contener más de un 35% de agua.

Yogur. Producto fermentado por acción de dos bacterias lácticas (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*); para su elaboración se pueden adicionar ingredientes naturales como las frutas, aromatizantes, edulcorantes y algunos otros aditivos alimentarios.

Crema. Producto que es rico en su contenido de grasa, la cual es separada de la leche y adopta forma de una emulsión parecida a la leche descremada con grasa.

Mantequilla. La mantequilla es un derivado de la crema pasteurizada de leche.

Queso. Producto obtenido de la coagulación de la leche pasteurizada por la acción de un cuajo enzimático o por ácidos orgánicos como el ácido acético, separando parcialmente el suero que se produce como consecuencia de la coagulación.

Quesos frescos. Queso que tiene una elaboración reciente.

Quesos maduros. Al contrario de los quesos frescos, los quesos maduros pasan por un tiempo de maduración a temperaturas y condiciones específicas donde se producen cambios bioquímicos y físicos para darle al queso características organolépticas que son muy especiales.

### **1.2.2 Yogurt**

Según la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010 un yogurt se define como “un producto obtenido de la fermentación de la leche, estandarizada o no, por medio de la acción de los microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* teniendo como resultado una reducción de pH”. Dichos microorganismos deben ser viables y estar presentes en el producto terminado en una cantidad mínimas de  $10^7$  colonias por gramo o mililitro (Romero del Castillo & Mestres , 2004). En términos más técnicos el yogurt se obtiene a partir de la transformación de la lactosa en ácido láctico debido a la acción de *S. thermophilus* (productor de los sabores y aromas característicos) y *L. bulgaricus* ( responsable de la acidificación ), en condiciones anaerobias, donde se oxida la glucosa a ácido pirúvico, para ser convertido a ácido láctico (Bernardino, 2004) (Bertolino et al., 2015). Cuando se utilice la denominación yogurt, se entenderá como yogurt, yoghurt, yoghurth o yogurth (NOM-181-SCFI-2010, 2010).

El yogurt se originó en Europa oriental (Turquía, Grecia, Rumania y Hungría), durante mucho tiempo varias civilizaciones han creído en los efectos beneficiosos del yogurt sobre la salud y la nutrición humana, pero no fue hasta 1900, que Ilya Ilyich Mechnikov biólogo ruso, planteó la teoría que, debido al consumo del yogurt de los campesinos búlgaros, estos tenían una alta esperanza de vida muy inusual, por lo que comprobó que los lactobacillus eran esenciales para una buena salud. Por lo que, Mechnikov trabajo para popularizar el yogurt por toda Europa (IKASTETXEA, 2019). La explicación más detallada la dio Schmidt, 1988, menciona que el yogurt debido a sus componentes como las proteínas, el fosforo, vitaminas y grasas, en la acidificación que ocurre en el proceso es capaz de transformar todos estos compuestos en componentes fáciles de digerir, es debido a esto a que aquellos que son intolerantes a la leche, son capaces de consumir yogurt, sin ningún problema.

En la Tablas 3 y 4, se muestra la composición de compuestos químicos y vitaminas que se encuentran normalmente en los yogures.

Tabla 3 Composición química del yogurt

<b>Compuestos (unidad/100g)</b>	<b>Yogurt entero</b>	<b>Yogurt descremado</b>	<b>Yogurt de frutas</b>
Calorías	72	64	98
Proteínas (g)	3.9	4.5	5.0
Grasas (g)	3.4	1.6	0.25
Carbohidratos (g)	4.9	6.5	18.6
Calcio (mg)	145	150	176
Fosforo (mg)	114	118	153
Sodio (mg)	47	51	-
Potasio (mg)	186	192	254

Tabla 4 Composición de vitaminas del yogurt

<b>Vitaminas (mg(100g)</b>	<b>Yogurt entero</b>	<b>Yogurt descremado</b>
Vitamina A	140	70
Vitamina C	-	0.7
Vitamina D	-	-
Vitamina E	-	Trazas

Actualmente se elaboran diferentes tipos de yogurt, los cuales pueden diferir en el método de producción, sabor, consistencia, textura, composición química y proceso post – acidificación, los cuales se pueden clasificar de la siguiente manera (Hernández, 2003).

A. Tratamiento tras la fermentación.

Yogur fresco. No existe ningún tratamiento térmico posterior a la fermentación. Se requiere conservación en frío para mantenerlo en condiciones de consumo.

Yogur pasteurizado después de la fermentación. Consisten en el tratamiento térmico de pasteurización después de la fermentación. Se pierde la viabilidad de las bacterias lácticas, manteniéndose las características nutricionales del producto, debido a esto no es necesario la refrigeración en frío.

## B. Proceso de elaboración.

Yogur firme. El proceso de fermentación se lleva a cabo en el mismo recipiente donde se va a almacenar y consumir.

Yogur batido. La elaboración del producto se lleva a cabo en tanques industriales y tras ser agitado, se envasa y se almacena para su posterior comercialización.

## C. Clasificación por el contenido de grasa.

Yogur enriquecido. Adición de nata, fundamentalmente existe un enriquecimiento de materia grasa en el producto.

Yogur entero. Elaborado con leche entera.

Yogur semidesnatado y desnatado. Elaborado con leche semidesnatada o leche desnatada.

## D. Clasificación por la consistencia.

Yogur líquido. El yogur es batido hasta que el producto logre alcanzar una consistencia líquida, para que sea de consumo bebible.

Mousse yogur. Después de la fermentación el yogur se bate y se integra con diversas sustancias aromatizantes, adicionado aire o determinados gases que le dan la consistencia espumosa característica.

### **1.2.3 Proceso de elaboración general del yogurt**

En la industria normalmente el yogurt se elabora con leche de vaca generalmente descremada o enriquecida con extracto magro seco, se adiciona de 2 al 5 % de cultivo láctico, el cual debe de contener una relación 1:1 de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, respectivamente, dependiendo la temperatura en que se lleve a cabo la incubación puede presentarse el predominio de una especie u otra, de esta forma es posible conseguir un producto con una acidez de 0.85 a 0.90 % o con un pH de 4.5. El proceso de elaboración del yogurt consta de varias etapas básicas, las cuales se muestran en la Figura 4 (Vera, 2011).

Materia prima. La leche pasa por un sistema de control de calidad donde se realizan análisis de pH, densidad, porcentaje de grasa.

Estandarización de la leche. Proceso en donde se regula el contenido de grasa en la leche, la adición puede variar de 0.1 a 10 %, siempre y cuando la composición de la leche llegue a cumplir las especificaciones de regulación fijadas por las normas legales de cada región o país. Los métodos más utilizados para la estandarización de la leche incluyen:

- a. Eliminación de la parte grasa de la leche.
- b. Mezcla de leche entera y descremada.
- c. Adición de grasa a la leche entera o descremada.

Estandarización del extracto magro de la leche. Para que el yogurt obtenga una consistencia y viscosidad agradable, es necesario considerar la concentración de sólidos no grasos de la leche. El aumento de extracto seco magro se puede lograr por varios métodos (Fox & McSweeney, 1988)

- a. Concentración por evaporación.
- b. Adición de leche en polvo descremada.
- c. Adición de mazada en polvo.
- d. Adición de suero de leche en polvo.
- e. Adición de caseína en polvo.

Tratamiento térmico. Consiste en calentar a 90 °C durante 15 a 30 minutos. En este proceso se busca destruir las bacterias patógenas, así mismo se elimina el oxígeno creando las condiciones adecuadas para el desarrollo de las bacterias lácticas, ya que se desnaturalizan las proteínas, provocando una liberación de péptidos.

Homogenización. La leche se enfría a una temperatura de 60 – 70 °C y una presión que va de 150 a 200 atm. Se busca disminuir y dispersar el tamaño de las partículas de grasa que puedan existir en la leche y ésta sea más homogénea. Este proceso se puede llevar a cabo antes o después del tratamiento térmico (Tamime & Robinson, 1991).

Preenfriamiento e inoculación. La temperatura se reduce a una temperatura de incubación que varía de 40 a 45 °C, en este momento se inicia el proceso de inoculación de los cultivos lácticos, lo que provoca una coagulación de la leche. El tiempo de fermentación es de 2.5 a 3 horas o hasta que se alcance el porcentaje de acidez o pH requeridos. Según la Ley General de Salud en México, la acidez final del yogurt debe ser de 0.85 a 1.8 % expresado como porcentaje de ácido láctico

Enfriamiento. Al lograr alcanzar el pH y la acidez adecuada, el yogur se coloca en refrigeración a una temperatura de 4°C para detener el proceso de fermentación, brindando la firmeza que caracteriza a este producto lácteo (Vera, 2011).

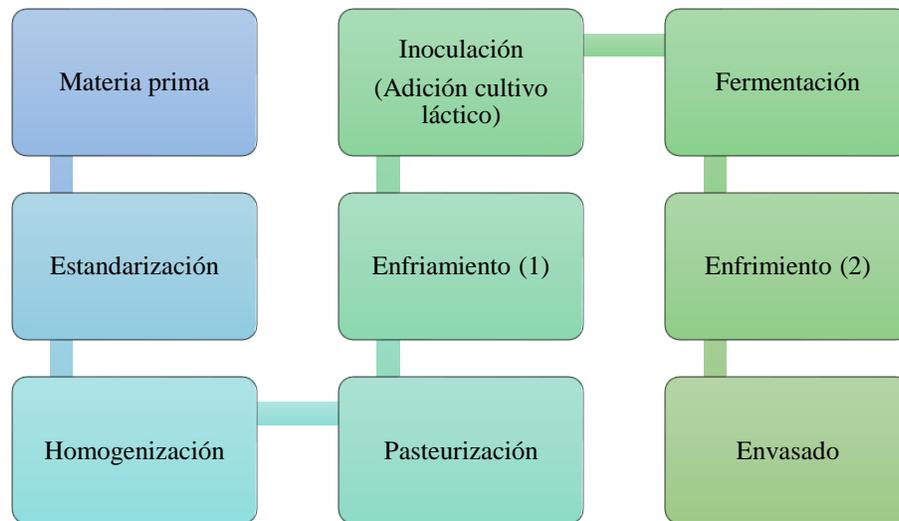


Figura 1 Diagrama del proceso de elaboración de yogur (Hernández, 2003).

Desde la antigüedad este producto se ha consumido como un alimento saludable debido a sus propiedades nutricionales (Muniandy, Shori, & Baba, 2016). Conforme ha pasado el tiempo, el yogur se ha vuelto un alimento apreciado entre sus consumidores, por lo que se produce y consume de forma masiva en muchas partes del mundo. En México, el yogur normalmente se elabora industrialmente, siendo por muchas razones la leche fermentada más importante y el más ampliamente difundido (Ramírez, Rosas, Velázquez, Ulloa, & Arce, 2011). Debido a esto, se han buscado formas de mejorar este producto; en este sentido, diversos autores han sugerido la incorporación de ingredientes no lácteos basados en plantas, semillas o frutas para fortalecer o enriquecer al yogur (Caleja et al., 2016). En la Tabla 5 se muestran algunos estudios que se han realizado en la elaboración del yogur incorporado con ingredientes no lácteos, para mejorar su funcionalidad o calidad del producto, donde se describe brevemente los resultados más importantes de cada estudio, en la mayoría de los estudios que se presentan en la tabla, se busca aumentar o enriquecer la actividad antioxidante de los yogures debido a la adición de diferentes componentes naturales. Los efectos más importantes que la mayoría de estos trabajos presentaron, es una reducción del tiempo de fermentación y por ende una reducción de pH más veloz. De igual manera, uno de los aspectos más importantes que señalan estos autores es el aumento de actividad

antioxidante o concentración de compuestos fenólicos, a medida que van aumentando la dosis de los ingredientes no lácteos. Sin embargo esto necesariamente se ve reflejado en la aceptabilidad sensorial de los consumidores, un ejemplo claro es el estudio que realizó Kang et al., 2018, donde los yogures agregados con jugo de pimiento rojo fermentado al 3% y jugo de pimiento verde al 1% mostró puntuaciones altas en sabor, apariencia, textura y aceptación general en la prueba sensorial, demostrando que no siempre está relacionado la actividad antioxidante con las características sensoriales.

Tabla 5 Investigaciones de diferentes ingredientes no lácteos adicionados al yogurt

Referencia	Ingrediente no lácteo adicionado	Efecto deseado	Dosis
(Amirdivani & Baba, 2011)	Menta, eneldo, albahaca	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Mayor actividad anti-ACE (inhibición de la enzima convertidora de angiotensina-1) en el período de almacenamiento</li> <li>◦ Formación de péptidos, incrementa la inhibición de ACE <i>in vitro</i>.</li> </ul>	100 mL de extracto
(Sung et al., 2015)	Zumo de mora liofilizado	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Contenido total de polifenoles y antocianinas fueron altas.</li> <li>◦ DPPH y el poder reductor se mantuvieron durante el almacenamiento en frío.</li> </ul>	1, 3 y 5 % (p/v)
(Joung et al., 2016)	Extractos de la hoja de <i>Diospyros kaki</i> y <i>Nelumbo nucifera</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Reducción del tiempo de fermentación</li> <li>◦ Incremento de la viabilidad del cultivo iniciador y de los compuestos fenólicos.</li> <li>◦ Influencia para aumentar la actividad antioxidante y la capacidad de retención de agua y para producir compuestos volátiles.</li> </ul>	0.2% (g/g)
(Jung et al., 2016)	Extracto de Ginseng rojo	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ El efecto antioxidante mejoró en proporción a la concentración de extracto de ginseng rojo.</li> <li>◦ Reduce el tiempo de la fermentación y aumenta la capacidad antioxidante.</li> <li>◦ Mejoró la actividad antioxidante porque el extracto de ginseng rojo apoyó el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas.</li> </ul>	0.5, 1.0, 1.5, y 2 % (v/v)
(Cho et al., 2017)	Polvo de oliva verde	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Se demostró que el yogur adicionado con 3 % de oliva verde produce un producto aceptable para salud sustancial y útil.</li> </ul>	1, 3 y 5 % (g/V)
(Kang et al., 2018)	Red or Green Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> cv. Chungyang) Juice	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ La actividad de eliminación de DPPH del yogur agregado con jugo de pimiento rojo fermentado fue mayor que la del yogur agregado con jugo de pimiento verde fermentado.</li> <li>◦ Los yogures que contengan jugo de pimiento se podría convertir un producto lácteo popular para aquellos consumidores que prefieran el único sabor de picor.</li> </ul>	1–5% (p/v)

### 1.2.4 Cultivos iniciadores

Los cultivos iniciadores son microorganismos que son incluidos en productos alimenticios para poder mejorar los procesos de fermentación y la calidad de los productos, por medio de los procesos metabólicos, dando como resultado compuestos generadores de sabor, aromas y texturas. Algunas de las funciones esenciales del uso de estos cultivos se muestran en la Figura 2.

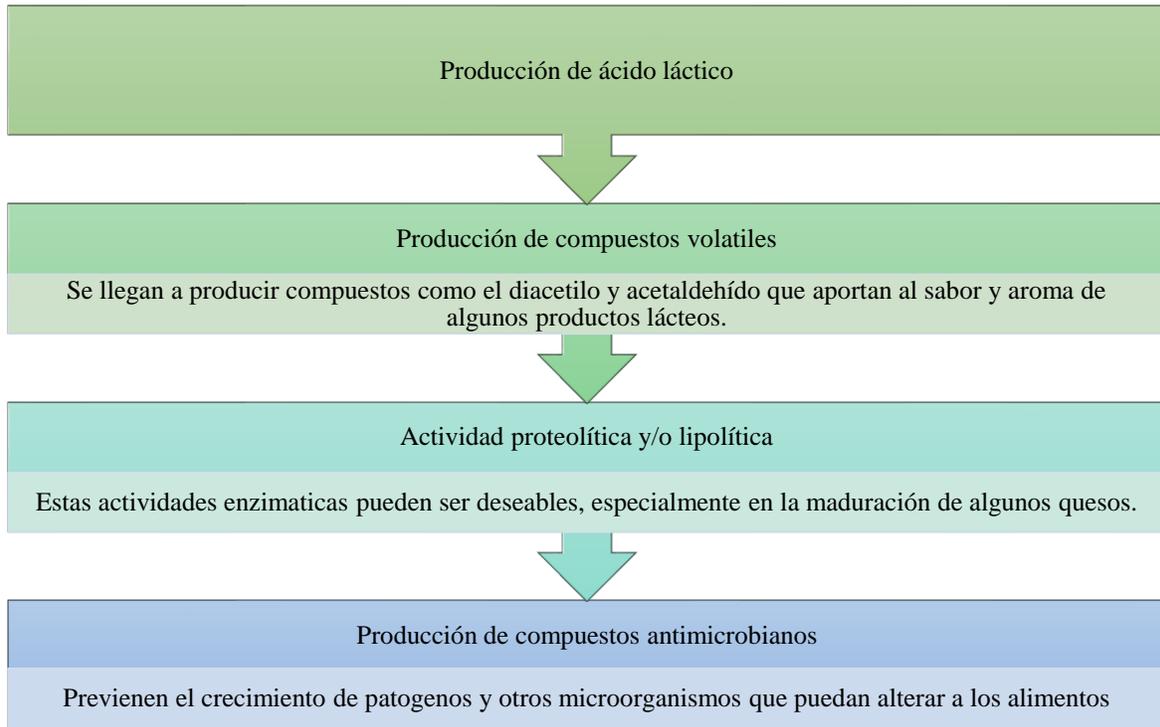


Figura 2 Funciones de los cultivos lácticos en los alimentos.

### 1.2.5 Generalidades de las bacterias ácido-lácticas

Las bacterias ácido-lácticas o por su abreviación BAL, son un grupo de bacterias que se identifican generalmente como cocos o bacilos Gram positivos, tienen la capacidad de fermentar carbohidratos, dando como resultado final ácido láctico ya sea como producto único o como subproducto, dependiendo del tipo de fermentación en que se maneje (homofermentador o heterofermentador). En cuanto a condiciones de crecimiento, las BAL generalmente son de característica mesófila; sin embargo, algunas cepas son capaces de crecer a temperaturas menores a 5 °C y/o a temperaturas altas de 45°C. Con respecto a las condiciones de pH, la mayoría de las bacterias de este grupo se desarrollan a una escala que va de 4.0 a 4.5, sin embargo un grupo de ellas pueden tener la capacidad de crecer a pH menores de 3.2 o a pH mayores como de 9.6. Dentro de este grupo de bacterias se pueden encontrar distintos géneros, de los cuales se encuentran los géneros

*Lactobacillus, Enterococcus, Pedicoccus, Lactococcus, Leuconostoc, Vagococcus, Streptococcus, Carnobacterium, Wisella, Aerococcus y Oenococcus* (García, 2007).

Las BAL tienen la capacidad de mejorar las características sensoriales de los productos alimenticios como son el sabor, el olor, textura, además de aumentar la calidad nutritiva del producto. La mayoría de estas bacterias son probióticos, los cuales son ampliamente utilizados en la industria alimentaria. Generalmente estos microorganismos se utilizan como iniciadores de productos lácteos como lo son las leches acidificadas, yogures, mantequilla, kéfir y quesos; en algunos procesamientos de carnes, bebidas alcohólicas y vegetales (Ramírez et al., 2011)

Las bacterias ácido lácticas pueden seguir dos rutas metabólicas para fermentar la lactosa, las cuales se pueden observar en la Figura 3 (Ibarra, 2007).

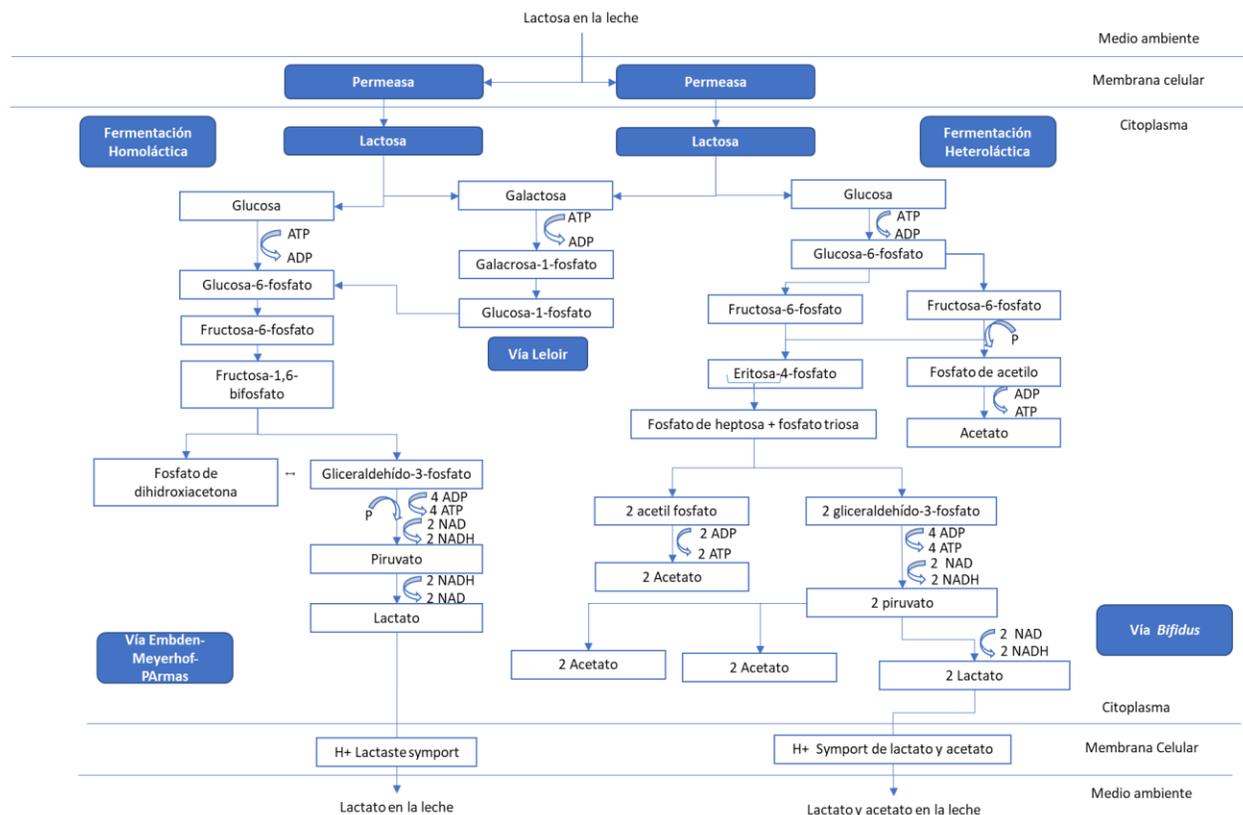


Figura 3 Ruta metabólica de las bacterias ácido-lácticas

### 1.2.5.1 Clasificación de las bacterias ácido-lácticas

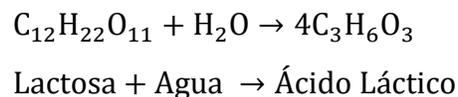
**Fermentación homoláctica.** En esta vía metabólica el paso más importante es la entrada de lactosa a la vía. Seguido de esto la lactosa-6-fosfato se hidroliza por la enzima  $\beta$ -fosfogalactosidasa ( $\beta$ -pgal) en sus componentes monosacáridos (galactosa y glucosa) los cuales se catabolizan a través

de las vías Tagatosa y Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Sin embargo, en la desfosforilación de la galactosa, puede que no se logre metabolizar y sea excretada de la célula microbiana. En ambas vías la galactosa y la glucosa desembocan en dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído-3-fosfato, donde los azúcares de tres carbonos se oxidan aún más en fosfoenolpiruvato produciendo al final ácido láctico. Generalmente la fermentación homoláctica es llevada a cabo por las bacterias *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* y *L. acidophilus*, que siguen la vía EMP principalmente para el catabolismo de la glucosa. No obstante, existe un sistema alternativo para el transporte de esta molécula a las células, este sistema involucra proteínas citoplasmáticas específicamente las permeasas, las cuales translocan la lactosa sin ninguna modificación química. Seguidamente de que la lactosa ingrese a la célula a través de una permeasa como disacárido no fosforilado, la glucosa es capaz de catabolizarse a piruvato y la galactosa es secretada por la célula, cuando se termina toda la glucosa, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* y *L. acidophilus*, utilizaran como recurso final a la galactosa a través de una nueva vía (vía Leloir) con galactoquinasa como la primera enzima de la vía metabólica (Tamime & Robinson, 2007).

Fermentación heteroláctica. En esta vía solo las bifidobacterias son capaces de fermentar lactosa y glucosa. En el catabolismo de la glucosa no produce CO<sub>2</sub>, debido a que no hay un primer paso que implique una descarboxilación. En la fermentación heteroláctica la aldosa y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa están ausentes en las bifidobacterias. Las hexosas son metabolizadas por una derivación de fructosa-6-fosfato y la vía involucra fructosa-6-fosfato fosfocetolasa. Los productos finales de Bifidobacteria spp., son el lactato y el acetato, donde por cada dos moléculas de glucosa, se producen tres moléculas de acetato y dos moléculas de lactato (Tamime & Robinson, 2007).

### **1.2.6 Metabolismo de las bacterias ácido-lácticas en el yogurt**

Producción de ácido láctico. El ácido láctico es uno de los componentes más importante en la elaboración del yogurt, si bien el proceso consta de muchas reacciones bioquímicas, se puede simplificar mediante la siguiente ecuación:



Una de las principales funciones del ácido láctico durante la elaboración del yogurt, es que le concede un sabor distintivo (ácido y fuerte). Mejora o contribuye a dar un sabor a nuez y/o

aromático. Cabe mencionar que en el proceso se pueden producir diferentes formas de ácido láctico, la forma L (+), D (-) o DL ( $\pm$ ). Estos isómeros difieren en la configuración de su estructura del segundo átomo de carbono como se puede observar en la siguiente figura (Tamime & Robinson, 2007).



Figura 4 Tipos de ácido láctico

Producción de compuestos aromáticos. Las bacterias lácticas son las responsables de la reproducción de los compuestos que aportan el aroma característico del yogurt. Los compuestos se pueden dividir en cuatro categorías, las cuales se describen a continuación (Tamime & Robinson, 2007):

1. Ácidos no volátiles (ácido láctico, pirúvico, oxálico o succínico).
2. Ácidos volátiles (ácido fórmico, acético, propiónico o butírico).
3. Compuestos carbonilo (acetaldehído, acetona, acetoína o diacetilo).
4. Otros compuestos (ciertos aminoácidos y/o constituyentes formados por la degradación térmica de las proteínas, grasas o de la lactosa).

En la Tabla 6 se puede observar el contenido de compuestos carbonilo, donde los autores comparan la actividad de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, y su trabajo de manera conjunta.

Tabla 6 Producción de compuestos de carbonilo ( $\mu\text{g} / \text{g}$ ) por cultivos iniciadores de yogur

Microorganismo	Acetaldehído	Acetona	Acetoína	Diacetilo
<i>S. thermophilus</i>	1.0-13.5	0.2-5.2	1.5-7.0	0.1-13
<i>L. bulgaricus</i>	1.4-77.5	0.3-3.2	Trazas-2.0	0.5-13.0
Cultivo mixto	2.0-41.0	1.3-4.0	2.2-5.7	0.4-0.9

Datos recolectados de Tamime & Deeth, (1980), Abo-Elnaga & Hegazi, (1981), Singh et al. (1982), Yaygin (1982b), Abou-Donia et al. (1984), Ashour et al. (1985), Yu & Chung (1986), Hegazi & Abo-Elnaga (1989, 1990), Kneife (1992) y Thomopoulos et al. (1993).

Metabolismo de las proteínas. Durante la fermentación las bacterias *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* pueden llegar a causar cierto nivel de actividad proteolítica; dicha actividad puede llegar a ser importante debido a las siguientes consideraciones (Tamime & Robinson, 2007):

1. Cambios que pueden alterar la estructura física del yogurt, debido a la hidrólisis enzimática que sufren las proteínas de la leche, lo cual provoca la liberación de péptidos de diferentes tamaños y aminoácidos libres.
2. Para el crecimiento de *S. thermophilus* es esencial la liberación de aminoácidos en la leche.
3. Los aminoácidos y péptidos no necesariamente contribuyen directamente al sabor del yogurt.

Proteólisis en el yogur. En el año de 1995 los autores Bianchi-Salvadori, Camaschella, & Cislighi, 1995, perfilaron una extensa gama de actividades enzimáticas de las bacterias *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, las cuales fueron aisladas de yogures y quesos italianos, como resultados de sus estudios, se consideró que *S. thermophilus* cuenta con más actividad exopeptidasa, por el contrario *L. bulgaricus* el cual posee una limitada actividad del tipo de endopeptidasas. *L. bulgaricus* tiene la capacidad de hidrolizar caseínas confirma dicha actividad; esta conducta de hidrólisis de péptidos en las BAL del yogurt refleja la relación que existe del crecimiento asociativo que existe entre *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*. En resumen, la actividad endopeptidasa que proporciona *L. bulgaricus* hidroliza la caseína para producir polipéptidos que, a su vez, se descomponen por las exopeptidasas de *S. thermophilus*, dando como resultado la liberación de aminoácidos (Tamime & Robinson, 2007).

Productos de la proteólisis. La actividad proteolítica de las BAL del yogur cambia el perfil de compuestos nitrogenados, en comparación a la composición inicial de la leche, estos compuestos cambian durante la fermentación y durante el almacenamiento en frío del yogurt, el cambio conforma un aumento en el nivel de compuestos nitrogenados solubles donde se incluye la liberación de aminoácidos y liberación de péptidos correspondientes de las proteínas de la leche. En la Tabla 7 se muestra la actividad proteolítica de las BAL del yogurt, en esta tabla se demuestra que *L. bulgaricus* es más proteolítica que *S. thermophilus*; sin embargo, *S. thermophilus* tiene la capacidad especial de aumentar el nivel de nitrógeno de amoníaco en las leches fermentadas, esto es debido a la capacidad que tienen los *Streptococos* para dividir la urea (Tamime & Robinson, 2007).

Tabla 7 Fracciones nitrogenadas solubles de la leche y leche cultivada con los microorganismos del yogur (Tamime & Robinson, 2007).

	Dializable N		Amoniaco N		Aminoácidos N		Urea N		Péptidos N	
	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%
Leche	249	4.7	30	0.6	20	0.4	62	1.2	137	2.6
<i>L. bulgaricus</i>	490	9.3	73	1.4	166	3.1	96	1.8	155	2.6
<i>S. thermophilus</i>	302	5.7	144	2.7	21	0.4	10	0.6	127	2.4

Liberación de aminoácidos. El contenido de aminoácidos en la leche y el yogurt depende de muchas variables, de las cuales destacan las siguientes:

1. Tipo de leche. La leche de diferentes especies tiene diferente composición química y por ende tienden a diferir en el contenido de aminoácidos.
2. Método de manufactura. Se tiene niveles altos de aminoácidos cuando la fermentación es llevada a cabo a temperaturas de 42°C por un tiempo de 2 a 3 horas, más que si la fermentación se llevara a cabo a 42°C por 1 hora, seguido de un segundo paso de disminución de temperatura a 30-32°C por 5-6 horas.
3. Relación entre bacilos y cocos. Debido a que *S. thermophilus* es menos proteolítico que *L. bulgaricus*, existe un menor rango de cocos que de bacilos, por lo que el contenido de aminoácidos en el yogurt será mayor por la actividad de los bacilos. En el año de 1970, Nachev, clasifico 3 grupos la fermentación de azúcares llevada a cabo por diferentes cepas de *L. bulgaricus*, y los tipos de aminoácidos que son liberados: 118 cepas, liberaron leucina, ácido glutámico, asparagina y prolina. Existió una ausencia de alanina, triptófano y ácido aminobutírico, 6 cepas, no liberaban ácido glutámico y en una sola cepa se observó la presencia del aminoácido triptófano.
4. Condiciones de almacenamiento. La temperatura de almacenamiento puede llegar a afectar el contenido de aminoácidos libres del yogurt. Entre mayor sea la temperatura de almacenamiento mayor será el contenido de aminoácidos libres.
5. Niveles de ácido láctico. La acidez titulable del yogurt está ampliamente relacionada con el contenido de aminoácidos libres presentes. Según Luca (1974), aquellos yogures que tengan un nivel de acidez de 1.73 a 1.9 g de ácido láctico /100g, existe un contenido de 50 a 70mg /100g respectivamente. La cifra de 70mg/100g, es el nivel más alto que se ha reportado en la literatura, por lo que se argumenta que el yogurt en cuestión haya tenido

una incubación prolongada por lo que el contenido de aminoácidos refleja la extensión de la actividad metabólica del cultivo iniciador.

### **1.2.7 Consumo global del yogurt**

El yogurt es un alimento que es un ingrediente importante en la dieta de los norteamericanos, debido a su naturaleza probiótica, la cual permite regular el sistema digestivo. En cuanto a consumo de este producto, en 2012 se obtuvo una ganancia aproximada de 7.3 billones de dólares, y se espera que en el presente año alcance un total de 11.7 billones de dólares (Einbock, 2016). En cuanto a nuestro país la demanda ha ido en aumento debido a la mejora de la dieta de las personas, al crecimiento de la población y el aumento de ingresos disponibles. En el año 2017, México se colocó en el número nueve como productor de leche a nivel mundial y en quinto lugar como importador de lácteos. La producción de lácteos representa la tercera actividad agropecuaria del país, donde los principales productores son Lala, Alpura y Nestlé. Los productos lácteos como el queso, el yogurt y las leches pasteurizadas, ocupan los primeros lugares de comercialización con una tendencia hacia las zonas urbanizadas, ya que éstas poseen vías de comunicación accesibles hacia grupos con niveles de ingreso altos; en contraste a esto, las zonas menos urbanizadas se limitan al consumo de leche bronca y productos artesanales (Merca2.0, 2018). Según estudios realizados, se espera que México tenga el mercado más atractivo en el presente año.

El yogurt está ganando popularidad entre los jóvenes debido a su uso como refrigerio y postre. El aumento de la competencia entre las empresas más grandes origina oportunidades para innovaciones en productos de yogurt; además, se espera que la preferencia del yogurt como alimento saludable aumente su consumo en los próximos años (Einbock, 2016).

### **1.2.8 Generalidades de la *Moringa oleifera***

*Moringa oleifera* Lam (Moringa), proviene de la familia de las Moringaceae, familia de arbustos y árboles de un solo género que está compuesta por 13 especies distribuidas en el subcontinente. Nativo de las montañas de sub-Himalaya en el norte de la India, se cultiva alrededor del mundo en zonas tropicales y subtropicales (Leone et al., 2015; Saini, Sivanesan, & Keum, 2016). En el siglo XIX se introdujo como especie comestible a América, desde las Filipinas por navegantes de China (Velázquez, Jiménez, Zepeda, & Peón, 2016). En el continente americano se puede encontrar desde el sur de Florida hasta Argentina; en cuanto a nuestro país, la Moringa se puede encontrar en las costas del Pacífico desde Baja California hasta Chiapas (Olson & Fahey, 2011; Velázquez et al., 2016).

Es un árbol dicotiledóneo perenne tropical caducifolio, tiene un tallo quebradizo con una corteza corchosa, gris blanquecino, sus ramas son caídas de color verde pálido (Saini et al., 2016). Las hojas son de un color verdoso y crece en las puntas de las ramas. La flor consta de pétalos medios amarillos- blancos que van de un tamaño de 1.0 a 1.5 cm de largo y 2.0- 2.5 de ancho. Las semillas son de forma redondeada o triangular con una cáscara semipermeable color marrón que está encerrada en vainas largas y delgadas, las partes antes mencionadas se muestran en la Figura 5 (Muchenje et al., 2018).

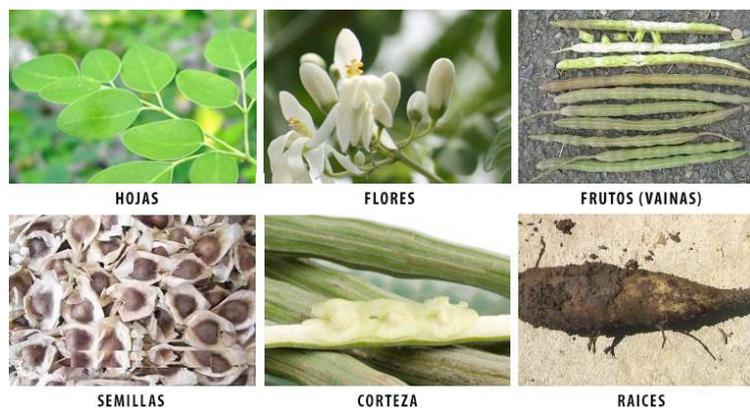


Figura 5 Partes del árbol de *Moringa oleifera*

Cada una de las partes del árbol son usadas para preparaciones medicinales y alimenticias, purificación de aguas y producción de biodiesel (Figura 6) (Saini, 2015; Saini et al., 2016) .



Figura 6 Diferentes usos de la Moringa en la industria (Velázquez et al., 2016)

En cuanto a su composición nutrimental, se ha identificado que la Moringa posee proteínas, fibra, carbohidratos, algunos aminoácidos, vitaminas y minerales. La composición nutricional de las diferentes partes del árbol y de la hoja de la Moringa en diferentes formas se presentan en las tablas siguientes.

Tabla 8 Composición de nutrientes de Moringa en base seca (Muchenje et al., 2018).

Nutriente	Rango de contenido (bajo-alto) *		
	Hoja	Semilla	Tallo
Proteína (g/100g)	10.74 <sup>a</sup> –30.29 <sup>b</sup> *	9.98 <sup>c</sup> –51.80 <sup>d</sup> *	12.77 <sup>e</sup>
Grasa (g/100g)	6.50 <sup>b</sup> –20.00 <sup>c</sup> *	22.97 <sup>g</sup> –38.67 <sup>f</sup> *	2.0 <sup>e</sup>
Fibra cruda (g/100g)	6.50 <sup>b</sup> –20.00 <sup>c</sup> *	20.00 <sup>c</sup> –22.93 <sup>g</sup> *	-
Cenizas (g/100g)	7.64 <sup>a</sup> –10.71 <sup>b</sup> *	3.60 <sup>j</sup> –5.00 <sup>c</sup> *	8.41 <sup>e</sup>
Carbohidratos (g/100g)	13.41 <sup>c</sup> –63.11 <sup>h</sup> *	18.00 <sup>c</sup> –40.09 <sup>g</sup> *	-
Potasio (K) (mg/100g)	120.96 <sup>l</sup> –1845.00 <sup>a</sup> *	75.00 <sup>f</sup>	-
Calcio (Ca) (mg/100g)	147.43 <sup>l</sup> –7230.00 <sup>a</sup> *	751.70 <sup>f</sup> –2800.00 <sup>g</sup> *	-
Fosforo (P) (mg/100g)	300.00 <sup>h</sup>	635.00 <sup>f</sup> –5300.00 <sup>g</sup> *	-
Magnesio (Mg) (mg/100g)	322.50 <sup>a</sup> –500.00 <sup>b</sup> *	45.00 <sup>f</sup>	-
Hierro (Fe) (mg/100g)	2.68 <sup>l</sup> –49.00 <sup>b</sup> *	5.20 <sup>f</sup>	-
Yodo (I) (mg/100g)	0.06 <sup>l</sup>	-	.
Zinc (Zn) (mg/100g)	1.00 <sup>b</sup> –3.10 <sup>a</sup> *	0.05 <sup>f</sup>	-
Manganeso (Mn) (mg/100g)	8.68 <sup>b</sup>	–45.00 <sup>f</sup>	-

<sup>a</sup> (Valdez et al., 2015) <sup>b</sup> (Moyo, Oyedemi, Masika, & Muchenje, 2012) <sup>c</sup> (Aja et al., 2013) <sup>d</sup> (Ochi, Ismail, & Fatur, 2015) <sup>e</sup> (Shih, Chang, Kang, & Tsai, 2011) <sup>f</sup> (Taiwo, Philip, & Alikwe, 2014) <sup>g</sup> (Mabusela, Nkukwana, Mokoma, & Muchenje, 2018) <sup>h</sup> (Mbailao, Mianpereum, & Ngakou, 2014). \* Valores reportados más bajos - valores reportados más altos

Tabla 9 Composición nutricional de la hoja de Moringa (100g/material vegetal).

Nutriente	Hoja fresca	Hoja seca	Polvo de la hoja
<b>Calorías (J)</b>	92.00	329.00	205.00
<b>Proteína (g)</b>	6.70-17.10	29.40-40.00	25.40-27.10
<b>Grasas (g)</b>	1.70-2.11	5.20-6.20	2.30
<b>Carbohidratos (g)</b>	6.30-12.50	38.00-41.20	34.4-38.20
<b>Fibra (g)</b>	0.90-2.09	12.50-21.09	19.20

Entre los minerales que se pueden encontrar el potasio, calcio y magnesio; se localizan en los tejidos de la Moringa. El contenido más alto de potasio se ha encontrado en las partes vegetativas

y las vainas inmaduras, mientras que en las hojas y semillas se puede encontrar el calcio y el magnesio respectivamente (Saini et al., 2016). En cuanto al contenido de compuestos anti-nutricionales, se ha reportado que estos se encuentran en bajas cantidades, entre los cuales se destacan, las saponinas, los taninos y oxalatos. Estos compuestos no necesariamente son tóxicos o deteriorativos, pero sí pueden intervenir con la digestión y la absorción de otros nutrientes como lo son el zinc, hierro y magnesio cuando se consume en grandes cantidades (Muchenje et al., 2018). La hoja también posee Niaziridina, compuesto activo que permite el mejoramiento de la absorción de diferentes vitaminas, minerales y otros micronutrientes en el tracto digestivo del huésped. Se cree que las hojas de Moringa contiene 2 veces más proteína que la leche de vaca, altas concentraciones de vitamina C más que las naranjas, alto contenido de potasio y hierro mayor que las bananas y mayor contenido de vitamina A que las zanahorias (Mahfuz & Piao, 2019). También es fuente de ácidos grasos polinsaturados omega 3 y omega 6, en forma de  $\alpha$ -linoléico y ácido linoleico. El ácido palmítico es el principal ácido graso saturado, lo que representa 16-18% del total de ácidos grasos de Moringa (Saini et al., 2016). Se considera un alimento importante para la hambruna, debido a su alta resistencia a las sequías y a las condiciones áridas (Padayachee & Bajinath, 2012; Saini et al., 2016). Se ha reportado que la ingesta de 10 g de hojas secas en polvo de Moringa por parte de niños con desnutrición, mejora el aumento de su peso y promueve una recuperación rápida después de 6 meses, en comparación con el grupo control (Zongo, Zoungrana, Savadogo, & Traoré, 2014; Muchenje et al., 2018).

### **1.2.9 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de *Moringa oleifera***

A parte de todos los componentes antes mencionados, la planta posee una amplia gama de compuestos bioactivos que normalmente son referidos como metabolitos secundarios o fitoquímicos (Muchenje et al., 2018). Juhaimi, Ghaffoor, Ahmed, Babiker, & Özcan, 2017, realizaron estudios acerca del contenido de compuestos fenólicos en dos especies de Moringa (*Moringa oleifera* y *Moringa peregrina*), reportaron que en las hojas jóvenes de Moringa contienen un 22 % de compuestos fenólicos más alto que las hojas jóvenes de *Moringa peregrina*. (Saucedo et al., 2018). En el año de 2016, Nouman et al., estudiaron siete diferentes cultivos de Moringa reportaron 12 tipos de flavonoides, donde la quercetina, kaempferol y la apigenina fueron los compuestos en mayor concentración en los siete cultivos estudiados. Las cantidades de flavonoides totales registrados correspondieron a 47.0, 30.0 y 20.0 % para quercetina, kaempferol y la apigenina, respectivamente. Estos hallazgos son similares a los estudios realizados por Rodríguez,

Quirantes, Fernández, & Segura, 2015, quien informó que los flavonoides son el grupo predominante de compuestos fenólicos en las hojas de Moringa con valores de 46.0, 34.0 y 7.7 % para quercetina, kaempferol y la apigenina, respectivamente (Saucedo et al., 2018). Uno de los hallazgos más relevantes de estas investigaciones, es que demostraron que la mayoría de los flavonoides presentes en los cultivares de Moringa, se encuentran glucosilados con distintas trazas de azúcares (ramnosa, soforosa, rutinosa, entre otros) y que las diferencias es debido a la maquinaria de glucosilación de cada planta.

Así mismo, (Caicedo et al., 2019), reporto el contenido de compuestos fenólicos libres de hojas secas de Moringa, (Tabla 10), la concentración de cada compuesto fenólico esta expresado en µg equivalentes a cada compuesto fenólico por cada gramo de muestra. Como se muestra en la tabla el ácido gálico, el ácido clorogénico y el ácido p-cumárico, así como la vanilina y rutina, presentaron los valores más altos en contenido de los extractos metanólicos, estos datos concuerdan con lo reportado por Cuellar et al., 2018, los cuales mencionan que los compuestos en mayor concentración de Moringa son los ácido gálico, clorogenico, p-cumárico y el ácido elágico, así como la vanilina, rutina y el kaempferol.

Tabla 10 Compuestos bioactivos encontrados en la hoja de Moringa en extracto metanólico

Muestra	Ácidos hidroxicinámicos					
Extracto	Acido gálico	Acido cafeico	Ácido elágico	Acido clorogénico	Ácido p-cumárico	
<b>metanólico de polvo de hojas de Moringa oleifera</b>	76.71±0.009	nd	nd	707.34±1.21	123.74±0.38	
	Hidroxibenzaldehídos			Flavonoides		
	Vanilina	Catequina	Rutina	Morin	Quercetina	Kaempferol
	291.95±0.38	nd	54.24±0.003	2.60±0.21	1.60±0.21	5.90±0.39

Cabe mencionar que el rendimiento de los compuestos fenólicos en la planta no depende solamente, de la temporada de cosecha, las condiciones climáticas y las aplicaciones de fertilizantes, sino también de la variabilidad genética, que podría ser el factor más importante para la composición fitoquímica de la Moringa, destacando que el área geográfica y el tipo de suelo igualmente influye en las propiedades de la planta (Nouman et al., 2016).

Algunos trabajos han demostrado que los compuestos bioactivos de las plantas de Moringa tienen gran potencial de ser usadas para la innovación de alimentos funcionales y otras aplicaciones en la industria alimentaria (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018). Se ha propuesto el uso de la Moringa agente antimicrobiano, antioxidante o como fortificador de un algún alimento.

#### **1.2.10 Aplicaciones de *Moringa oleifera* en la industria alimentaria**

En la actualidad las semillas deshidratadas y el polvo de hoja de Moringa se han estado empleando alrededor del mundo, en la formulación de varios productos comestibles con el fin de obtener alimentos funcionales o fortificados, siempre tomando en cuenta los parámetros sensoriales tales como el color, la apariencia, el aroma, textura, el sabor y la aceptación en general, la aplicación de esta planta en la elaboración de sopas, comida de destete, masas duras, “amalas”, biscuits herbales, panes, pasteles y algunos productos lácteos (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018). En la Tabla 11 se muestran algunos ejemplos del uso de la Moringa en alimentos. Los autores Shah, Bosco, & Mir, 2015, indicaron que la adición de las hojas de Moringa en polvo, mejoran las proteínas musculares de la carne cruda, esto es debido a que Moringa posee compuestos fenólicos bioactivos, que proporcionan propiedades funcionales a las proteínas del músculo previniendo la oxidación lipídica. Así mismo, el procesamiento de estos alimentos influye en la reducción del contenido de compuestos anti-nutricionales (ácido fítico y saponinas), como es el caso del proceso de elaboración de snack, se observó que después de la aplicación de aire caliente (220 °C) por dos minutos. En la elaboración de panes, la inclusión de las hojas, flores e incluso de las semillas de la Moringa en la masa del pan preparada con harina blanca por sí sola o con la combinación con otras harinas ha sido reportada con el fin de mejorar el valor nutricional del pan, como resultado; se han obtenido que el contenido de proteína y fibra cruda del pan blanco adicionado con 5% de polvo de hoja de Moringa, incremento aproximadamente 54 y 56 % respectivamente. En la elaboración de gachas de cereales, también conocidos como *ogi*, el cual se considera como un alimento para el destete o complementario para bebés o un cereal rápido para adultos, elaborado a partir de maíz, sorgo o mijo. Durante la producción del *ogi* algunos nutrientes como las proteínas y minerales se pierden de los granos debido a el proceso de tamizado, por lo que se ha encontrado que la adición de polvo de Moringa (flor o hoja), mejora notoriamente los valores nutricionales del alimento, nutrientes tales como las proteínas, calcio, hierro y fósforo mostraron un aumento considerable, después de la adición del polvo de Moringa. En el caso del uso de Moringa en los productos lácteos, existen estudios que reportan la fortificación de quesos y yogures con polvo de Moringa (hoja), las

concentraciones usadas son variables hasta aproximadamente el 3%, sin embargo, también existen reportes el uso de concentraciones de 1%. (Kuikman & O'Connor, 2015), demostraron que existe una mejora en los atributos sensoriales del yogurt adicionado con polvo de Moringa (17g/1000mL de yogurt), al añadir componentes como el plátano, camote o aguacate, se encontró que aquel yogurt adicionado con plátano y polvo de Moringa mostraba una apariencia, textura y aceptabilidad general comparables con el yogurt control. Sin embargo (Hekmat, Morgan, Soltani, & Gough, 2015) mencionan que el uso de concentraciones mayores a 0.5%, ya que afecta de manera negativa la aparición probióticos en el yogurt, de igual manera estos autores informaron que el uso de harina al 2% en combinación con frutas u otros vegetales se produce un yogurt aceptable (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018). Otra aplicación del polvo de Moringa en los productos lácteos es en el queso, se descubrió que el contenido de nutrientes como grasa, proteínas, cenizas y carbohidratos del queso elaborado a partir de leche de búfalo y polvo de Moringa generalmente aumenta con los niveles crecientes del polvo de Moringa (Salem, Salama, Hassanein, & El-Ghandour, 2013). Las propiedades antioxidantes del queso fortificado aumentaron notablemente con el aumento de concentración del polvo de Moringa, se informa que el queso fortificado con 3% muestra propiedades antioxidantes tres veces más altas que el queso control (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018).

Tabla 11 Aplicaciones funcionales de la Moringa en algunos productos alimenticios (Saucedo et al., 2018)

<b>Productos alimenticios</b>	<b>Estructura vegetativa</b>	<b>Concentración (g/100g*)</b>	<b>Ventajas funcionales</b>	<b>Compuestos bioactivos involucrados</b>	<b>Referencia</b>
<b>Galletas</b>	Semilla	10-20	Mejora las propiedades nutricionales con características reológicas y sensoriales aceptables	Proteínas y minerales	(Ogunsina, Radha, & Indrani, 2011)
<b>Galletas de arroz</b>	Hoja	2	Buenos puntajes en la aceptividad sensorial	NI	(Manaois, Morales, & Ramos, 2014)
<b>Pan</b>	Hoja	5	Mejora la composición nutricional	Proteína, fibra y minerales	(Sengev, Abu, & Gernah, 2013)
<b>Galletas</b>	Hoja	10-20	El producto tiene cualidades sensoriales aceptables	NI	(Nwakalor, 2014)
<b>Carne cruda empacada (atmosfera modificada)</b>	Hoja	0.3**	Proporciona coloración estable y previene la oxidación lipídica de la carne cruda	Compuestos fenólicos	(Shah et al., 2015)

<b>Snack listo para comer</b>	Hoja	20	Reducción de los factores anti-nutricionales	Compuestos fenólicos, saponinas y ácido fítico	(Devisetti, Sreerama, & Bhattacharya, 2015)
<b>Sopa de verdura en polvo</b>	Hoja	8.5°	Mejora la calidad nutricional y una larga vida útil	Proteína, fibra, vitamina D y C y minerales.	(Farzana, Mohajan, Saha, Hossain, & Haque, 2017)
<b>Pan</b>	Semilla	5	Mejora calidad nutricional, manteniendo las propiedades sensoriales	Proteína, fibra, vitaminas y minerales	(Folashade, Eniola, & Olayemi, 2017)

### 1.2.11 Generalidades de la Chía (*Salvia hispanica L.*)

*Salvia hispanica* o Chía es una especie nativa de Centroamérica, pertenece a la familia de las *Lamiaceae*, crece en zonas montañosas del oeste y centro de México; se localiza en zonas boscosas de encino o pino-encino, se distribuye en ambientes semicálidos y templados. En la antigüedad se cultivaba en ambientes tropicales y subtropicales. Es una planta herbácea anual, que mide alrededor de 1 a 1.5 metros de altura, sus tallos son ramificados, las flores son hermafroditas, ya sean de color morado o blancas, de longitud de 1 a 1.2 mm de diámetro; son suaves y brillantes de un color pardo grisáceo con manchas castaño oscuro. Es una planta con altos niveles de polinización cruzada en Chía cultivada; en la Chía silvestre, los insectos hacen el trabajo de la polinización, la cual obtiene más rendimientos cuando las abejas están en las zonas de cultivo (Xingú et al., 2017).



Figura 7 Planta y semilla de *Salvia hispanica L.*

Para los Aztecas y los Mayas, la Chía era una semilla que se usaba mucho en la alimentación, preparación de pinturas, en preparados medicinales y en ceremonias en modo de ofrendas, por lo que la semilla y su harina se convirtieron en una de las materias primas más usadas en esa época antes de la conquista española, formando parte de las semillas más importantes: maíz, frijol, Chía

y amaranto, los cuales conformaban la base de la dieta alimentaria. En la actualidad, las semillas de Chía han sido redescubiertas con la finalidad de mejorar la salud de las personas que la consumen, debido a sus altos niveles de proteínas, antioxidantes, fibra dietética, vitaminas y minerales, por su alto contenido de aceite omega 3, en comparación con otras fuentes conocidas hasta la fecha; debido a esto, la demanda en nuestro país y a nivel mundial ha ido incrementando en los últimos años (Xingú et al., 2017).

En cuanto a composición nutricional, está compuesta por proteínas (15%-25%), grasas (30%-33%), carbohidratos (26%-41%), fibra dietética (10%-30%), cenizas (4%-5%), minerales, vitaminas y materia seca (90%-93%) (Segura, Ciau, Rosado, Chel, & Bentacur, 2014). En cuanto al contenido de ácidos grasos polinsaturados, se estima que en un promedio tiene el 33% de aceite, de los cuales el ácido linolénico está representado en un 62% y el linoleico en un 20%. Se considera que la Chía es uno de los cultivos con mayor porcentaje de ácidos grasos esenciales al tener el 82% de sus lípidos con dichas características.

Grasas. Compuestos bioactivos que el cuerpo humano necesita para acumular energía, formación de elementos estructurales de las membranas celulares y la regulación de funciones fisiológicas. La semilla de Chía contiene aproximadamente de 25 – 40% de grasa, de los cuales se encuentra en forma de ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido alfa-linolénico ( $\omega$ -3) y el ácido alfa-linoleico ( $\omega$ -6). En comparación con otros elementos alimenticios, el aceite de Chía es caracterizado por el alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados.

Proteínas y aminoácidos. Componentes estructurales celulares que son necesarios para un normal funcionamiento del organismo. Las semillas de Chía contienen de un 16-26%, siendo la prolaminas, glutelinas, globulinas y albúminas, las más predominantes. Aquellas personas que padezcan la enfermedad celíaca pueden consumir, ya que es una semilla que no contiene proteínas de gluten. Reportes han mencionado que la Chía contiene valores más altos que las semillas de arroz, maíz, cebada o avena. En cuanto al contenido de aminoácidos presentes en las semillas, se han reportado que contiene 18 aminoácidos, los cuales incluyen 7 aminoácidos exógenos, de los cuales el ácido glutámico es el aminoácido más predominante en la semilla (Olivos, Valdivia, & Tecante, 2010)

Fibra dietética. El contenido de fibra en la Chía es de 23 a 41%, donde la fracción insoluble representa un 85% y la fracción soluble en un 15%. La Asociación Dietética Americana, estableció

que la relación de fibra insoluble y soluble debe de ser de 3:1. Se recomienda que el consumo óptimo sea de 25 a 30 gramos por día para que sea de influencia positiva a la salud de los consumidores. Cabe destacar que la Chía contiene el doble de contenido de fibra que el salvado y de 4 a 5 veces más que las almendras, la soya, quinua o fibra.

Vitaminas y minerales. Fuente de vitamina B: tiamina (0.62 mg/100g), riboflavina (0.17mg/100g), niacina (883mg/100g) y ácido fólico (49mg/100g). Si comparamos la semilla de Chía con el arroz y el maíz, la semilla contiene más niacina y cantidades importantes de tiamina y riboflavina (Marcinek & Krejpcio, 2017).

### 1.2.12 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la Chía

La Chía también es una fuente de compuestos bioactivos caracterizados por tener alta actividad biológica, particularmente los polifenoles, como son el ácido gálico, cafeico, clorogenico y ácido ferulico, quercetina, kaempferol y algunas isoflavonas (Tabla 12) (Kobus, Taczanowski, & Kmiecik, 2019).

Tabla 12 Compuestos bioactivos presentes en la semilla de Chía.

	Compuesto	µg/g Semilla	Referencia
<b>Polifenoles</b>	Acido gálico	0.05- 11	(Jin, Nieman, Sha, & Xie, 2012); (Martínez & Paredes, 2014)
	Acido cafeico	27-30.89	(Martínez & Paredes, 2014); (Coelho & Salas, 2014)
	Ácido clorogenico	4.68	(Coelho & Salas, 2014)
	Para-hidroxibenzoato de etilo	0.74	
	Ácido ferulico	Trazas	
	Quercetina	0.17	
	Kaempferol	0.013	
	Kaempferol 3-O-glucosido	0.029	
	Epicatequina	0.029	
	Rutina	0.22	
	Acido p- cumárico	0.24	
	Apigenina	0.005	
<b>Isoflavonas</b>	Daidzin	6.6	(Jin et al., 2012)
	Glicitina	1.4	
	Genisteína	3.4	

Varios autores destacan que el ácido clorogénico y el ácido cafeico son los compuestos bioactivos que más sobresalen en la Chía, generalmente estos compuestos son del tipo primario y trabajan de forma sinérgica para contribuir a la actividad antioxidante de la Chía, demostrando tener una importante actividad en contra de los radicales libres y en los procesos oxidativos en general, pudiendo inhibir la peroxidación lipídica (Jaramillo, 2013). (Nadeem et al., 2013), reporto que la inhibición de radicales libres es incluso mayor que aquellas fuentes naturales de antioxidantes como es el caso de la *Moringa oleifera* (Reyes, Tecante, & Valdivia, 2008), el contenido de antioxidantes es distinto dependiendo el método de extracción que se use, en la Tabla 13 se puede observar la diferencia entre los métodos de extracción (extracto crudo y extracto hidrolizado), en donde se obtuvo un mayor contenido de polifenoles en el extracto crudo (Marcinek & Krejpcio, 2017).

Tabla 13 Contenido de polifenoles en extracto de semillas de Chía (mg/g)

Antioxidantes	Extracto crudo	Extracto hidrolizado
Polifenoles	0.757-0.881	0.511-0.77

Aunado a esto Sargi et al., 2013, demostró que las semillas de Chía son capaces de desactivar los radicales catiónicos de ABTS, también mostraron que estas semillas muestran la capacidad de eliminar radicales de DPPH sintético y capaz de reducir iones hierro, estos autores muestran que en ambas pruebas la actividad antioxidante de la semilla es mayor en comparación con la linaza. Coelho & Salas, 2014, confirmaron estos resultados, reportando que los extractos de semillas de Chía son capaces de inhibir los radicales de DPPH más de un 70%. Cabe mencionar que la Chía es capaz de inhibir la oxidación enzimática del guayacol, el cual (Segura, Salazar, Chel, & Betancur, 2013), confirmaron que los hidrolizados de proteínas de la semilla son capaces de inhibir los radicales catiónicos ABTS (Kobus et al., 2019).

### 1.2.13 Aplicación de la Chía en la industria alimentaria.

Las semillas de Chía se distinguen por presentar propiedades nutricionales y tecnológicas, lo cual permite que tengan varias aplicaciones. Se sabe que la Chía no tiene efectos anti nutricionales, tóxicos o antialérgicos en la salud humana, por lo que se ha incorporado a alimentos como son algunos productos horneados (biscuits, cereales, barras, algunos snacks), productos lácteos e incluso en productos cárnicos y marinos (pescado), mejorando los valores nutricionales, sino que también como agente espesante hidrocoloide o como sustituto del huevo, grasas o gluten, sin

afectar de manera significativa las propiedades tecnológicas o físicas del alimento. El procesamiento de la Chía produce aceite y harina, los cuales se agregan industrialmente a numerosos productos. La incorporación de harina de Chía entera en pan permite el mejoramiento de las propiedades nutricionales como el contenido de proteína y cenizas, algunos de estos ejemplos se incluyen en la Tabla 14, donde se describen los niveles máximos usados de la semilla o aceite, así como los requisitos de etiquetado requeridos (Kobus et al., 2019).

Tabla 14 Aplicaciones funcionales de la Chía en algunos productos alimenticios.

Condiciones de uso del alimento		Especificaciones adicionales de etiquetado
<b>Semillas de Chía</b>	Alimento específico	Niveles máximos
	Productos panificados	5 % (semillas enteras o molidas)
	Productos horneados	
	Cereales (desayuno)	
	Mezcla de frutas, nueces y semillas	10% semillas enteras
	Jugo de frutas y batidos de frutas y verduras	15g/día, semilla completa, trituradas o molidas
	Semillas pre- empacadas	15g/día semilla entera
	Untables de frutas	1 % semilla entera
<b>Semillas de Chía</b>	Yogurt	1.3g semillas/100g yogurt o 4.3g/330g yogurt (semillas enteras)
	Alimentos listos para comer esterilizados a base de granos de cereales y/o legumbres.	5% semilla entera
	Grasas y aceites	10 %
<b>Aceite de Chía</b>	Aceite puro de Chía	La designación del alimento en el etiquetado será “aceite de Chía ( <i>Salvia hispanica</i> )
	Complementos alimenticios	2g/día

Productos horneados. Son fáciles de modificar y en la actualidad diferentes autores han incorporado el uso de Chía para el mejoramiento de estos productos. La mayoría se enfoca en las características tecnológicas y reológicas que esta semilla pueda dar al producto. Un ejemplo de estas aplicaciones es el uso del gel de la Chía como sustituto de grasa en la elaboración de pan blanco, obteniendo como resultado masas más suaves con valores decrecientes durante el almacenamiento y un aumento de la actividad de la levadura en comparación a los controles manejados (pan sin Chía). Se menciona que uno de los mejores resultados en la incorporación de esta semilla, es el remplazo de grasa del 25% por el gel de la Chía molida, con un rendimiento de volumen más alto en la miga del pan incluso después de 48 horas de la preparación de la masa, cabe mencionar que también existió una reducción del contenido de grasa, el cual provoco que el espectro de ácidos grasos se desplazara, aumentando el contenido de ácido linoleico y linolénico. En cuanto al producto final, existió una disminución en la retro degradación después del almacenamiento (Zettel & Hitzmann, 2018).

Productos lácteos. El uso de la Chía en los productos va en aumento recientemente. Ullah, Nadeem, & Imran, 2017, reportaron que la cantidad de ácidos grasos ( $\omega$ -3) en helado fue mayor con la incorporación del aceite de la Chía, sin ningún afecto negativo en el almacenamiento de 30 días. En el caso de la aplicación de las semillas en el yogurt, parece ser una propuesta prometedora. En el año de 2017, Ayaz et al., adicionaron semillas de Chía al yogurt como merienda de media mañana con el propósito de dar un efecto de saciedad a corto plazo el cual resulta en una menor ingesta de energía a la hora del almuerzo.

Carne y productos pesqueros. Existen varios estudios o investigaciones que hablan acerca de la incorporación de semillas de Chía a productos cárnicos los cuales buscan el incremento de las propiedades nutricionales y fisicoquímicas de los productos. Por mencionar algunos; Ding et al., 2018, propusieron el mejoramiento de las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y nutricionales en productos cárnicos reestructurados parecidos al jamón. Hamburguesas bajas en grasa fueron elaboradas con micropartículas de aceite de Chía sustituyendo el 50 % de grasa de la carne, como resultado la calidad sensorial fue afectada, sin embargo la dureza de la carne no fue afectada, la pérdida de cocción y la retención de grasa mejoraron (Teresinha et al., 2017). En cuanto a productos del mar, existen estudios de la incorporación de la harina a Chía a productos de pescado para mejorar los valores nutricionales. (Santillán et al., 2017), incorporo hasta un 8% de harina de Chía

para fortificar la carne de carpa común, lo que resulto en productos más oscuros y duros, con mejores características de cocción y altos niveles nutricionales.

### 1.2.14 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos son compuestos producidos por las plantas en general, que tienen efectos farmacológicos y toxicológicos en las personas y/o animales. Los compuestos bioactivos generalmente son producidos como metabolitos secundarios, se estima que más de 100,000 metabolitos son producidos por las plantas, generando una actividad biológica importante (Pérez & Jiménez, 2011; Paulsen, 2010). Los compuestos bioactivos de las plantas se pueden clasificar de acuerdo con diferentes criterios, ya sea por su función clínica, categorización botánica o por la estructura y función química. En la figura 7 se muestra una de las muchas clasificaciones que se pueden encontrar de estos grupos (Calderón, y otros, 2008). Debido a que la mayoría de estos compuestos se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos que consumimos, se han estado realizando una serie de estudios para evaluar su efecto hacia la salud (Hecker et al., 2003).



Figura 8 Tipos de compuestos bioactivos

### 1.2.15 Radicales libres y antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que tienen gran importancia en la ciencia de los alimentos, debido a su capacidad de prevenir la oxidación de lípidos en los alimentos y disminuir los efectos negativos de las especies reactivas de oxígeno en las funciones fisiológicas del cuerpo humano. Los polifenoles son compuestos que están ampliamente distribuidos en las plantas, y se encuentran entre los antioxidantes naturales más estudiados, debido a las preferencias que han tenido el consumidor a este tipo de productos naturales (Bertolino et al., 2015).

Los radicales libres son moléculas que presentan un electrón desapareado o impar generando una gran inestabilidad a la molécula, tienden a captar un electrón de otras moléculas para que pueda alcanzar su estabilidad, produciendo un daño celular, actuando sobre diferentes macromoléculas

como los lípidos, proteínas y el ácido desoxirribonucleico (ADN), ocasionando el estrés oxidativo, el cual es una condición que manifiesta nuestro organismo cuando las especies reactivas de los radicales libres sobrepasan los mecanismos antioxidantes, provocando enfermedades cardiovasculares, diabetes e incluso el cáncer (Jiménez, Guapillo, Ceballos, & Méndez, 2010). Los antioxidantes reaccionan con el radical libre, donde el antioxidante le cede un electrón oxidándose y a su vez transformándose en un radical libre con un escaso o nulo efecto tóxico, retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de las especies reactivas del oxígeno (Avello & Suwalsky, 2006). Existen dos tipos de antioxidantes los endógenos y los exógenos, los cuales se describen en la figura siguiente (López & Suárez, 2001).

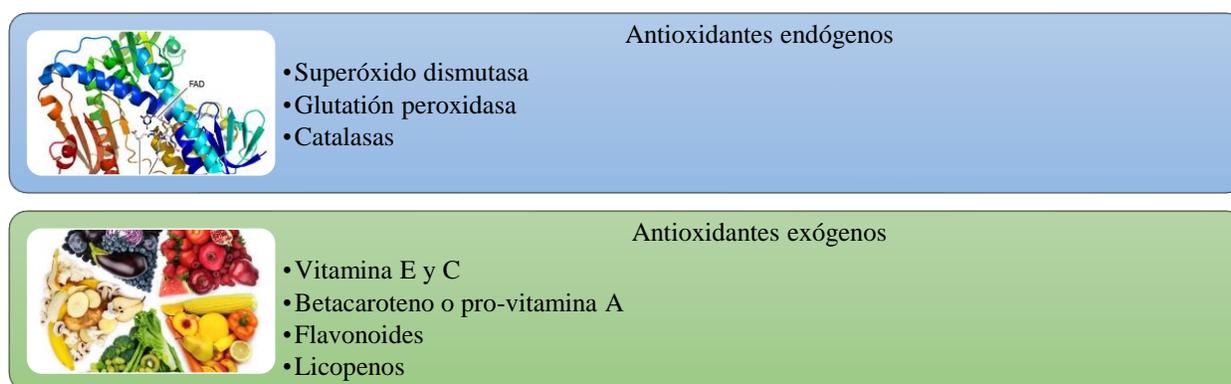


Figura 9 Tipos de antioxidantes

### 1.2.16 Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante

Los compuestos fenólicos son compuestos que están formados por al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo (OH); estas sustancias comprenden moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta llegar a formar polímeros complejos como los taninos y la lignina (Jordá, 2015). Estos compuestos tienen una serie de funciones metabólicas en las plantas, donde pueden participar en el crecimiento y en la reproducción de las mismas, también participan en la protección contra patógenos externos como son la radiación UV y algunos depredadores (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014). Para su clasificación se dividen en clases y subclases que se pueden definir en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan dichos anillos (Aleixandre & Quiñones, 2012).

Este tipo de compuestos son muy susceptibles a la oxidación; debido a esto, tienen un carácter antioxidante, ya que pueden experimentar la oxidación antes que otras especies susceptibles de ser oxidadas y, en consecuencia, las protegen frente a estos ataques antioxidantes. Por otra parte, los

compuestos con estructuras complejas tienen la capacidad de recuperar su estado reducido por medio de un equilibrio redox, favorecido por las interacciones de otros grupos funcionales con distintos metabolitos que puedan estar presentes en el medio (Jordá, 2015). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe a sus propiedades redox; las cuales juegan un papel importante en la absorción y neutralización de radicales libres y en la descomposición de peróxidos. Cabe mencionar que dicha actividad antioxidante varía en función del grupo de compuestos estudiados y de su solubilidad en fase acuosa o lipídica (Porras & López, 2009).

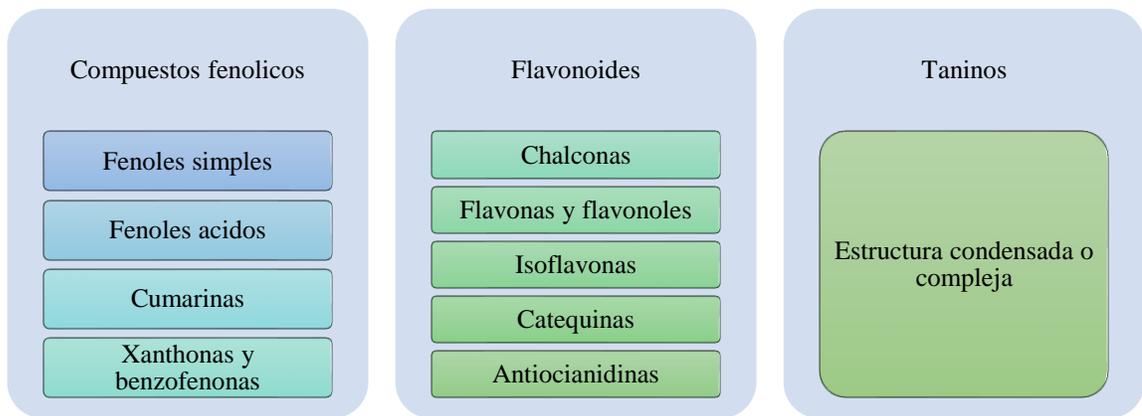


Figura 10 Ejemplos de compuestos fenólicos (Peñarrieta et al., 2014)

## **CAPITULO II**

### **2.1 HIPOTESIS**

Los ingredientes no lácteos (Chía y Moringa), son fuentes de antioxidantes que pueden modificar las características de calidad del yogurt durante el almacenamiento en frío, pudiendo producir un prototipo de alimento funcional.

### **2.2 OBJETIVOS**

#### **2.2.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la adición de harina de Chía y extracto de Moringa en la composición química, actividad antioxidante *in vitro*, aceptación sensorial y viabilidad de bacterias lácticas de un yogurt durante su almacenamiento refrigerado.

#### **2.2.2 Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de la adición de harina de Chía y extracto de Moringa en la fermentación y almacenamiento refrigerado del yogurt (pH y acidez titulable).
- Determinar la composición química y aceptación sensorial del yogurt elaborado.
- Evaluar los cambios en la actividad antioxidante *in vitro* y el contenido de compuestos fenólicos totales del yogurt elaborado durante su almacenamiento en refrigeración.
- Evaluar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas y la concentración de péptidos durante la proteólisis del yogurt durante 0, 7, 14 y 21 días a 4°C.

### CAPITULO III

#### 3.1 ESTRATEGIA DE TRABAJO

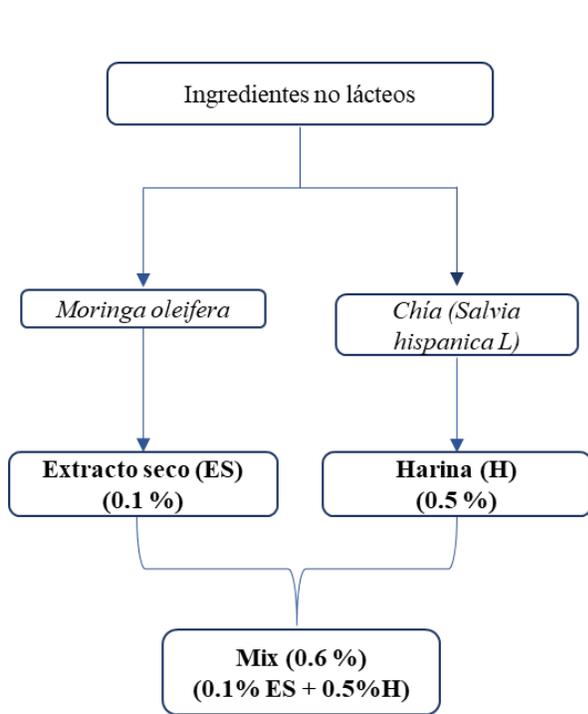


Diagrama 1 Concentraciones de ingredientes no lácteos empleadas en el estudio.

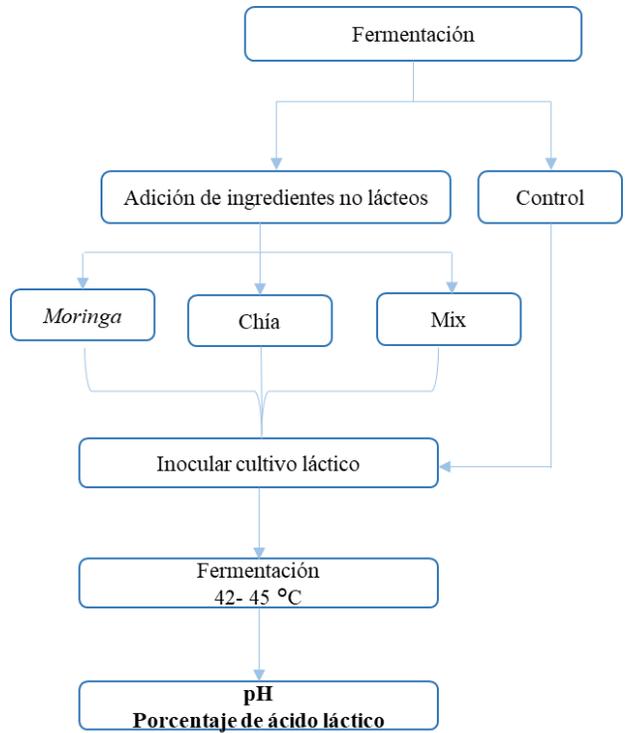


Diagrama 2 Proceso general de la elaboración del yogurt

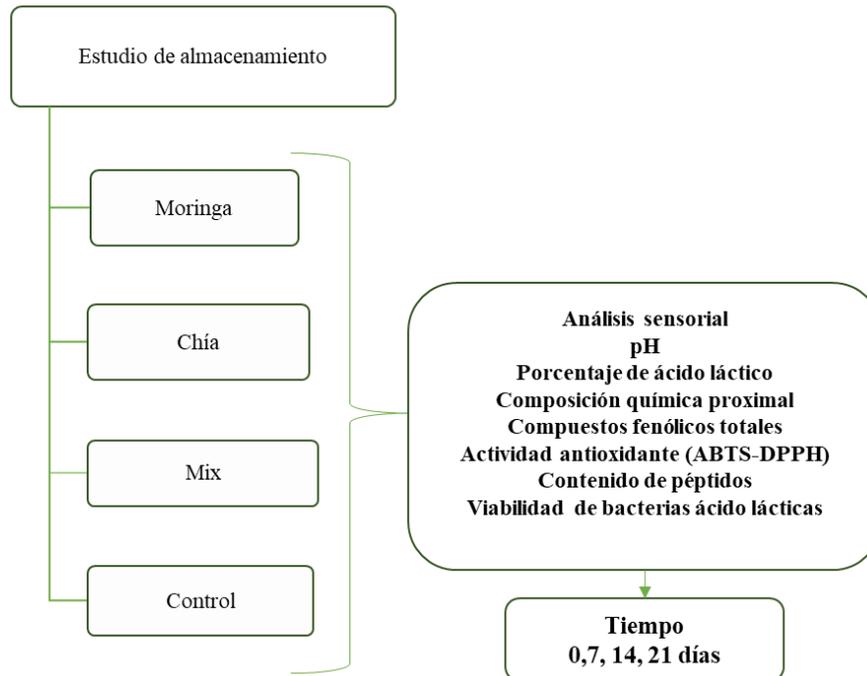


Diagrama 3 Análisis realizados durante el almacenamiento de los productos en estudio.

## 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.2.1 Ingredientes no lácteos

Extracto seco de Moringa. Las hojas de Moringa se recolectaron en la ciudad de Mérida, las cuales se secaron a 90°C por 1 h, se pulverizaron en una licuadora alrededor de 1 min y se tamizó con un colador de cocina; lo que se obtuvo se almacenó hasta su uso en envase de plástico en refrigeración. Para preparar los extractos, se tomaron 5 g de la harina y se colocaron en 200 mL de agua destilada. La mezcla fue calentada permitiendo que esta alcanzara el hervor durante 5 min, se dejó enfriar otros 5 min y se procedió a filtrar; lo obtenido del filtrado se evaporó por 3 días a una temperatura de 50°C; hasta obtener el extracto seco (Caleja et al., 2016).

Harina de Chía. Se usaron semillas comerciales de la marca Xiomega Superfoods<sup>+</sup>. Las semillas fueron pulverizadas en licuadora alrededor de 1 min y se tamizó con un colador de cocina; se almaceno en refrigeración hasta su uso en un envase de plástico en la obscuridad.

### 3.2.2 Preparación del yogurt

Se preparo un yogurt tipo batido acorde a las especificaciones descritas por la NOM-181-SCFI-2010, así como en el manual interno de laboratorio de alimentos de origen animal. A continuación, se describen los pasos que se llevaron a cabo para la producción de los yogures.

Estandarización de la leche. En la elaboración del yogurt se usó leche entera comercial que se calentó hasta 60°C. Se agregó leche en polvo con la finalidad de que la leche posea una mayor concentración de sólidos, ayudando a que el yogurt tenga una mejor consistencia, favoreciendo el proceso de la fermentación. Se homogenizó hasta que se alcanzara una temperatura de 45°C (temperatura de inoculación).

Adición de ingredientes no lácteos. Al alcanzar la temperatura de inoculación, se adicionó de manera separada 0.1% de extracto seco de Moringa, 0.5% de harina de Chía (porcentaje/100 mL de leche) y se realizó una mezcla con ambos componentes (Mix); se elaboró un Control, el cual no contenía ninguno de estos componentes.

Inoculación de cultivos láctico. Seguido de la adición de los ingredientes no lácteos, se adiciono de manera directa el cultivo iniciador liofilizado marca YOGURMET (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*). Se mantuvo a una temperatura de 42-45°C por un tiempo de 6 horas;

al finalizar el tiempo de fermentación, se puso en refrigeración a 4°C para realizar los análisis posteriores.

### 3.2.3 Preparación del extracto acuoso

10 g de yogurt fueron homogenizados con agua destilada en una proporción de 1:0.25 p/v. El pH de la solución fue ajustado a 4.0 con HCl 1.0M para reducir la solubilidad de la caseína que se encuentra en la leche. La solución se colocó en incubación a 45°C por 10 min. Se centrifugó a 5000 rpm a 4°C por 10 min para remover las proteínas precipitadas de la leche. El sedimento se desechó y se añadió NaOH 0.5M para neutralizar el sobrenadante hasta alcanzar un pH de 7.0. Se centrifugó nuevamente para lograr una mayor precipitación de las proteínas y de las sales. El sobrenadante de la segunda centrifugación se utilizó en los análisis de los ensayos posteriores (Shori, Rashid, & Baba, 2018).

### 3.2.4 Determinación de pH y acidez titulable

El pH y la acidez titulable se midieron durante el proceso de fermentación del yogurt; este se realizó cada hora por 6 h en total. De igual manera, se midieron estos parámetros durante los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento del producto.

pH. Se midió el pH con un potenciómetro HANNA HI220; se calibró con las soluciones buffer de pH 7 y pH 4. Las muestras de pH se midieron directamente con el electrodo del potenciómetro.

Acidez titulable. Se siguió la NOM-185-SSA1-2002, Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias, para determinar la acidez titulable de los yogures. Se tomaron 9 mL de yogurt y se disolvió con 9mL de agua destilada, se agregaron de 5-6 gotas de indicador fenolftaleína y se procedió a titular con NaOH 0.1N hasta que la muestra vire a un color rosado que se mantenga aproximadamente 30 segundos. El volumen gastado de NaOH se coloca en los siguientes datos y así poder obtener el porcentaje de ácido láctico del producto.

$$\left( \frac{mL NaOH \times 0.1 N \times 0.09}{mL muestra} \right) \times 100$$

### 3.2.5 Composición química proximal

Los análisis se realizaron de acuerdo con los métodos propuestos por (A.O.A.C, 1997).

Determinación de la humedad. Determinación gravimétrica de la pérdida de masa de la muestra desecada hasta una masa constante en estufa de aire. Se introdujeron los crisoles a una estufa, a una temperatura de 105°C hasta tener un peso constante. Se colocan en un desecador durante 20 min para su breve enfriamiento. Se pesan sin muestra y posteriormente se colocan 2 g de yogurt, se colocan nuevamente en la estufa a 105 °C hasta que la muestra queda totalmente deshidratada; se colocan en el desecador, se pesan y se determina su humedad por diferencia de peso (A.O.A.C, 1997).

$$\% \text{ Humedad} = \left( \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \right) \times 100$$

Donde:

Pi: Peso inicial de la muestra en gramos (Húmeda).

Pf: Peso final de la muestra en gramos (Seca).

Determinación de Cenizas. El principio del método consiste en la incineración de la muestra en un horno a 550°C. La muestra previamente deshidratada se lleva a la mufla donde permanece a 550°C durante 4 h; posteriormente se colocan en el desecador por 30 min, se pesan y se realiza el cálculo correspondiente (A.O.A.C, 1997):

$$\% \text{ Cenizas} = (P_2 - P_0) \times \left( \frac{100}{P_1 - P_0} \right)$$

Donde:

P0: peso en gramos del crisol.

P1: peso en gramos del crisol conteniendo la muestra.

P2: peso en gramos del crisol y el residuo después de la incineración.

Determinación de grasas. Extracción de la grasa de la muestra previamente hidrolizada y desecada, por medio de hexano o éter de petróleo. En un cartucho de extracción de celulosa se coloca la muestra deshidratada con una capa ligera de algodón en la parte superior del cartucho, se colocan en el extractor Soxhlet, se coloca un recipiente con éter de petróleo (80 mL) para cada muestra y se procede a la extracción, la cual consta de tres fases: inmersión, lavado y recuperación. Concluido

este proceso (que tarda aproximadamente 2 h), se procede a sacar los cartuchos de extracción de celulosa y se colocan en un desecador, para que absorban la humedad residual durante media hora, finalmente se pesan. Cálculo del porcentaje de grasa:

$$\% \text{ Grasa} = \left( \frac{B - A}{M} \right) \times 100$$

Donde:

B = Peso del extracto de celulosa + muestra (antes de introducir al equipo).

A = Peso del extracto de celulosa + muestra (después de introducirla al equipo).

M = Peso de la muestra deshidratada

Determinación de proteína (nitrógeno). La cantidad de proteína se determina a partir de su contenido en nitrógeno. El principio del método consiste en el ataque del producto por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, catalizado con CuSO<sub>4</sub> y Se, durante el cual el nitrógeno orgánico se transforma en iones amonio, lo cual, en medio fuertemente básico, permite la destilación del amoniaco, que es recogido sobre H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. La posterior valoración con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, permite el cálculo de la cantidad de nitrógeno inicialmente presente en la muestra.

Digestión: Un gramo de muestra fresca se coloca en un tubo Kjeldahl de 300 mL, se agregan 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 2 pastillas de mezcla de cobre como catalizador de la reacción. Los tubos se colocan en el digestor, se tapan y se aumenta la temperatura al máximo, se enciende la trampa de gases (Scrubber), se deja digerir hasta que la muestra se torne transparente, durante una hora y treinta minutos; posteriormente, se deja reposar 30 min para que los gases se disipen; finalmente se procede a la destilación.

Destilación: Se calibran las bombas dosificadoras de agua, de NaOH al 32 % y de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 4%. Se ajusta el pH del equipo con los buffers amortiguadores 7 y 4. Se ajusta el pH del H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (4.65 - 4.7) y se introducen los datos del peso de las muestras que van a ser analizadas en la pantalla digital. Se hace una limpieza con agua destilada y se empiezan a destilar las muestras.

Titulación: Se titula automáticamente en el equipo utilizando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1N. Cuando se termina de realizar la titulación, en la pantalla se muestran los mL gastados en la valoración, el % de nitrógeno y el % de proteína.

Determinación de fibra. La fibra cruda es la pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con soluciones de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e NaOH en

condiciones específicas. Se pesa la muestra deshidratada y desengrasada. Se coloca en un vaso precipitado de 500 mL, se agregan 200 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1.25%, y se deja hervir por 30 min. Se enfría y filtra; se lavar con 50 a 75 mL de agua hirviendo, repetir el lavado con 3 porciones de 50 mL de agua o hasta que cese la reacción ácida. Retornar el residuo al vaso de precipitado y agregar 200 mL de solución de NaOH al 1.25% y hervir por 30 min, filtrar y lavar con 50 a 75 mL de agua hirviendo, repetir el lavado con 3 porciones de 50 mL de agua o hasta que cese la reacción básica, en papel filtro tarado, secar a estufa a 100°C durante 3 h aproximadamente.

$$\% \text{ Fibra} = \left( \frac{\text{Papel filtro con la muestra seca} - \text{tara del filtro}}{\text{Peso de la muestra}} \right) * 100$$

### 3.2.6 Actividad antioxidante *in vitro*

Ensayo DPPH (1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). El radical DPPH<sup>+</sup> se formó pesando 2.5 mg del radical, el cual fue disuelto en 90 mL de metanol puro. La solución se ajusta a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 con el mismo disolvente a una longitud de onda de 515 nm. En cuanto a la reacción química del DPPH, el radical se hizo reaccionar con el extracto acuoso del yogurt. Se ajustó el blanco con metanol. En un tubo se colocaron 3.9 mL de la solución de DPPH y 100 µl de extracto acuoso. La disminución absorbancia a 515 nm es medido a intervalos de 1 min por 5 min y luego cada 5 min por 30 min hasta que se logre la estabilidad usando un espectrofotómetro UV-Visible.

Método ABTS. Generación del radical ABTS<sup>+</sup> a partir del precursor Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico, el radical que se obtiene es catiónico y es un compuesto de color verdeazulado, estable y que cuenta con un espectro de absorción en UV-visible (Re et al., 1999).

Preparación radical ABTS. Para liberar el radical ABTS<sup>+</sup> se tomaron 10 mL de la solución ABTS y se adicionaron 40 µl de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 70 mM para así formar el reactivo ABTS<sup>+</sup>. La mezcla se mantiene en oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h para la formación del radical. Esta solución es estable durante dos días. La solución de ABTS<sup>+</sup> se diluye con etanol para obtener una absorbancia de 0.81 a 734 nm. Esto se consigue mezclando 2.5 mL de la solución del radical con aproximadamente 100 mL de etanol. Se realizó la curva con el reactivo Trolox a diferentes concentraciones. Las lecturas se tomaron pasados los 7 min de interacción entre el ABTS y la muestra. Se utilizaron 1900 µl de ABTS por 100 µl de extracto acuoso del yogurt.

### 3.2.7 Compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos fue determinado usando el método de Wei et al., (2011), con ligeras modificaciones. Se mezclaron 100 µl del extracto acuoso del yogurt con 100 µl de reactivo Folin-Ciocalteu 1N, la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 3 minutos. Se agregaron 300 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1N a la mezcla, se agitó en el vórtex y se colocaron en incubación a temperatura ambiente durante 90 min. Pasado el tiempo se añadió 1 mL de agua destilada para completar la reacción. Las muestras se leyeron a una absorbancia de 725 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100g de muestra. Se utilizó ácido gálico como estándar (Cho et al., 2017).

### 3.2.8 Conteo microbiano de bacterias lácticas viables

Para el conteo de bacterias lácticas se usaron las placas 3M Petrifilm, el cual es un sistema que elimina el oxígeno, creando un ambiente anaeróbico para la recuperación de BAL homofermentativas y heterofermentativas. Para la inoculación se prepararon diluciones seriadas (10<sup>-7</sup>) usando solución salina al 0.9%. La placa se colocó en una superficie plana y nivelada, se levantó la película superior y se colocó 1 mL de dilución en el centro de la placa Petri film, de manera que la pipeta esté perpendicular al área de inoculación; se procedió a bajar con cuidado la película superior, evitando la formación de burbujas de aire. Colocar el difusor en el centro de la placa y presionar con suavidad, para poder distribuir la muestra uniformemente; esperar sin mover la placa a que solidifique el gel. Incubar las placas con el lado transparente hacia arriba a 37°C por 48 h. El número de colonias formadas después del tiempo de incubación fueron expresadas en unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (UFC/mL) usando la siguiente fórmula (Shori et al., 2018).

$$UFC/ml = \frac{\text{Número de colonias formadas} \times \text{factor de dilución de la muestra}}{1.0 \text{ ml de muestra}}$$

### 3.2.10 Método colorimétrico cadmio-ninhidrina para el ensayo de péptidos

Para la determinación de la concentración de péptidos en los yogures en estudio se usó el método colorimétrico modificado de ninhidrina (Doi, Shibata, & Matoba, 1981)

Para la preparación del reactivo cadmio-ninhidrina, se pesaron 0.8 g de ninhidrina. Se disolvió en 80 mL de etanol absoluto; a esta solución se le adiciono 10 mL de ácido acético glacial. Finalmente

se añadió 1 g de  $\text{CdCl}_2$  disuelto en 1 mL de agua destilada. La solución se mantuvo en agitación por 30 min y se procedió a filtrar. Se tomaron 50  $\mu\text{L}$  de extracto acuoso del yogurt y se colocaron en un tubo de ensayo (agitar previamente el extracto en un vórtex), en el mismo tubo de ensayo se colocaron 950  $\mu\text{l}$  de agua destilada y se procedió a agitar en el vórtex aproximadamente por 1 min; pasado el tiempo se colocaron 2 mL del reactivo cadmio-ninhidrina (agitación constante). Finalmente se calentó a  $84^\circ\text{C}$  por 10 min; posteriormente se enfrió a temperatura ambiente, apareciendo un color rosado más o menos intenso, que pone en manifiesto la reacción. Las muestras se leyeron a una absorbancia de 507 nm. De forma paralela se realizó un ensayo en blanco. Los resultados se calcularon a partir de la curva patrón obtenida con concentraciones conocidas de leucina, expresados en mg Leucina por cada 100 g de muestra.

### **3.2.11 Análisis Estadístico.**

Los análisis fueron realizados por triplicado. Los valores obtenidos se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) fueron calculadas mediante una prueba de ANOVA de una sola vía por Duncan, utilizando STATGRAPHICS para Windows, 10.

## CAPITULO IV

### 4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1.1 Cambios de pH y contenido de ácido láctico (%) durante la fermentación láctica y almacenamiento de un yogurt enriquecido.

En el proceso de la fermentación láctica para la elaboración del yogurt intervienen dos tipos de bacterias lácticas (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*), el primero es el encargado de iniciar la fermentación y se desarrolla hasta un pH de 5.5, la acidez, el consumo de oxígeno, la liberación de sustancias volátiles (ejemplo: ácido fórmico), crea condiciones favorables para el desarrollo y crecimiento de *Lactobacillus bulgaricus*. Este último debido a su actividad proteolítica estimula el crecimiento de *S. thermophilus* liberando ácidos grasos y acetaldehído, el cual es uno de los compuestos constituyentes del aroma del yogurt (Vera, 2011). El desarrollo de ambas especies es a temperaturas de entre 37 a 45 °C, capaces de soportar medios ácidos con pH cercanos a 4.0; al estar trabajando conjuntamente, estas bacterias tienen una mayor capacidad de producir ácido láctico. En este caso se realizaron cuatro pruebas: un Control, un yogurt incorporado con harina de Chía, un yogurt incorporado con extracto seco de Moringa y la cuarta muestra es una mezcla entre estos dos primeros componentes (Mix). Para la elaboración de los productos, los ingredientes se adicionaron antes de inocular el cultivo láctico para dar inicio a la fermentación, debido a que según lo reportado por El-Said et al., (2014) y Sun-Waterhouse, Zhou, & Wadhwa, (2013) los compuestos añadidos pre-inoculación se descomponen en formas más pequeñas, las cuales son más extraíbles o estables durante la fermentación del yogurt. En la Figura 11, se muestra los resultados obtenidos, donde existió cambios significativos en los valores de pH y contenido de acidez (expresado como % de ácido láctico) de los productos adicionados con los ingredientes no lácteos. Los tratamientos Control, Chía y Moringa, alcanzaron pH de 4.85, 4.83 y 4.63 respectivamente; en cuanto a porcentaje de ácido láctico estos tratamientos alcanzaron valores de 0.76, 0.70 y 0.90 % respectivamente. La disminución de pH es debido a la producción de ácido láctico, lo que provoca la estabilización de la caseína a pH 5.1 a 5.2, ocurriendo una completa coagulación a un pH de 4.6, debido a que en la coagulación existe la estabilidad de las caseínas provenientes de la leche, las cuales al inicio tienen una carga negativa, cuando sucede la acidificación de la leche, los iones de hidrógeno (+) del ácido son absorbidos por las caseínas, por lo que la carga negativa va disminuyendo y así también la repulsión entre ellas. La coagulación empieza cuando la repulsión disminuye (Vera, 2011), llegando a la combinación de la fermentación

alcanzando valores aproximados de 4.2 a 4.5 de pH y/o cuando se alcanza valores alrededor de 0.75-0.8 % de ácido láctico (Mastellone, 2007). Aunado a esto Billard et al. 2007 reporto que el factor más importante para medir la capacidad de fermentación de las bacterias, es el porcentaje de ácido láctico, ya que la producción de ácidos orgánicos, está ampliamente relacionado con la acumulación de acidez titulable.

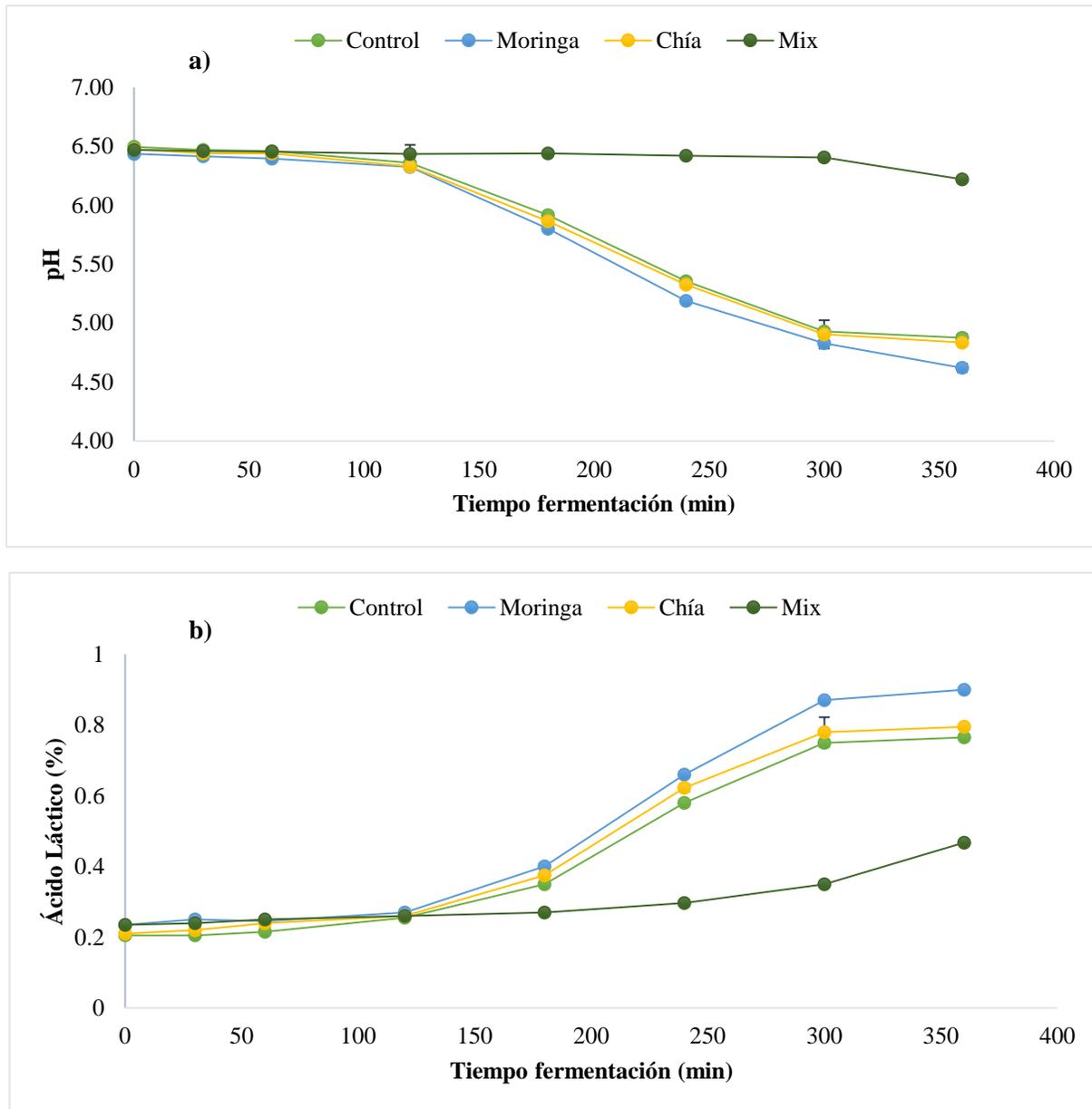


Figura 11 a) pH b) Porcentaje de ácido láctico. Cambios de pH y porcentaje de ácido láctico del yogur adicionado con los ingredientes no lácteos durante la fermentación

Los datos obtenidos en la muestra Mix (Figura 11), al comparar con las muestras Control, Chía y Moringa, la muestra Mix, obtuvo un pH de 6.22 y un porcentaje de acidez de 0.46; al mismo tiempo de fermentación, por lo que se sugirió el aumento de sólidos totales (leche en polvo), debido que a cuanto mayor sea el contenido de sólidos en la mezcla, se obtiene una mayor consistencia y viscosidad del producto, propiedades que están relacionadas con la disminución de pH y la formación de ácido láctico (Mart, 2003); al aumentar el contenido de sólidos totales, generalmente se incrementa la densidad de la red proteica, disminuyendo el tamaño de los poros, lo cual hace que el agua se ligue firmemente al producto (Mastellone, 2007). Se propuso manejar tres porcentajes de leche en polvo (6%, 6.5% y 10%), para la elaboración del yogur Mix, se recomienda que la adición de leche en polvo no rebase del 10%, ya que si se añade por encima de este rango puede que el yogur obtenga un sabor indeseable a leche en polvo (Mart, 2003). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 15 donde se demuestra que al porcentaje de 6.5% se alcanza un pH de  $4.8 \pm 0.007$  y un porcentaje de ácido láctico de  $0.8 \pm 0.007$  %, por lo que con esta prueba se estableció que el porcentaje adecuado para elaborar el yogur Mix es el de 6.5% de leche en polvo.

Tabla 15 pH y porcentaje de ácido láctico con el aumento de solidos lácteos

Tiempo (min)	6%		6.5%		10%	
	pH	% Ácido Láctico	pH	% Ácido láctico	pH	% Ácido Láctico
0	$6.53 \pm 0.00$	$0.30 \pm 0.00$	<b><math>6.49 \pm 0.00</math></b>	<b><math>0.29 \pm 0.00</math></b>	$6.45 \pm 0.00$	$0.31 \pm 0.00$
60	$6.50 \pm 0.00$	$0.32 \pm 0.00$	<b><math>6.44 \pm 0.00</math></b>	<b><math>0.29 \pm 0.000</math></b>	$6.41 \pm 0.00$	$0.31 \pm 0.00$
180	$5.93 \pm 0.04$	$0.54 \pm 0.01$	<b><math>6.35 \pm 0.00</math></b>	<b><math>0.30 \pm 0.000</math></b>	$6.02 \pm 0.01$	$0.43 \pm 0.00$
240	$5.25 \pm 0.00$	$0.73 \pm 0.51$	<b><math>5.27 \pm 0.00</math></b>	<b><math>0.61 \pm 0.00</math></b>	$5.14 \pm 0.00$	$0.79 \pm 0.05$
360	$5.06 \pm 0.00$	$0.75 \pm 0.00$	<b><math>4.87 \pm 0.00</math></b>	<b><math>0.81 \pm 0.00</math></b>	$5.10 \pm 0.02$	$0.83 \pm 0.02$

Durante el tiempo de almacenamiento (21 días) ocurrió una post- acidificación (Figura 12), se observa una tendencia de aumento de ácido láctico conforme avanzaban los días de almacenamiento; en el caso del pH, se puede observar que este disminuyó de manera paulatina, destacando la producción de ácido láctico. Este fenómeno según Shori (2013) ocurre por la acción metabólica residual de las bacterias lácticas del yogurt, la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa que es liberada por las bacterias lácticas para cortar a la lactosa sigue incluso activa a la temperatura de almacenamiento refrigerado (0-5°); existiendo una acumulación de ácidos orgánicos, como el ácido

acético, el ácido láctico y el ácido butírico; de igual manera existe una acumulación de acetaldehído, ácido fórmico, los cuales son producidos por el cultivo iniciador del yogur como subproductos metabólicos (Shori, 2013). Robinson (2011) reportó que después de 3 a 4 semanas de almacenamiento en frío, se alcanzan condiciones de pH alrededor de 4.3-4.5, donde el crecimiento y el metabolismo de *S. thermophilus* se ve inhibido por las condiciones ácidas (Brabandere & Baerdemaeker, 1999).

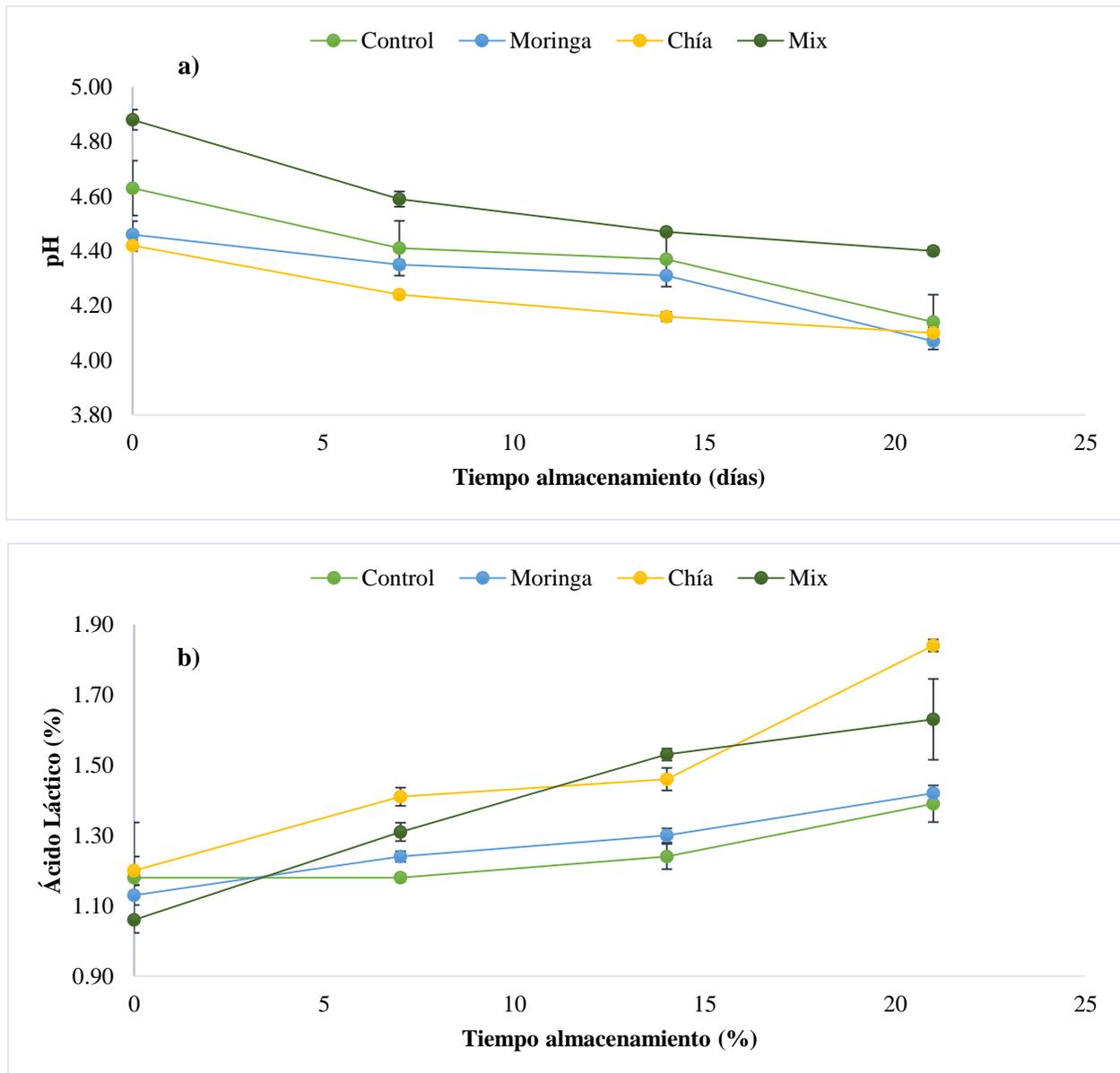


Figura 12 a) pH b) Porcentaje de ácido láctico Cambios de pH y acidez del yogur adicionado con ingredientes no lácteos durante el almacenamiento

#### 4.1.2 Composición química proximal y análisis sensorial

La composición química proximal del yogurt se vio afectada ligeramente por la incorporación de ingredientes no lácteos en su formulación, como se observa en la Tabla 16.

Tabla 16 Composición proximal del yogurt con ingredientes no lácteos

Muestra	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasas (%)	Fibra (%)	Proteína (%)
Control	82.76 ± 0.24 <sup>b</sup>	1.06 ± 0.01 <sup>c</sup>	8.32 ± 0.85 <sup>ab</sup>	n.d*	4.30 ± 0.26 <sup>a</sup>
Moringa	82.99 ± 1.29 <sup>b</sup>	1.01 ± 0.00 <sup>b</sup>	5.30 ± 1.68 <sup>a</sup>	n.d*	5.42 ± 0.03 <sup>b</sup>
Chía	83.47 ± 0.24 <sup>b</sup>	1.00 ± 0.02 <sup>b</sup>	11.82 ± 1.47 <sup>bc</sup>	16.05 ± 5.60 <sup>b</sup>	5.70 ± 0.16 <sup>b</sup>
Mix	81.61 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.09 ± 0.00 <sup>a</sup>	14.25 ± 1.92 <sup>c</sup>	7.19 ± 0.77 <sup>a</sup>	5.75 ± 0.13 <sup>b</sup>

Letras diferentes entre columnas representan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos de acuerdo con Duncan ( $p < 0.05$ ).

\* No detectable

En la muestra Mix se tuvo como resultado un menor contenido de humedad del yogurt cuando se compara con el Control ( $81.61 \pm 0.113$  y  $82.76 \pm 0.248$  respectivamente). Este hecho, puede ser explicado por la naturaleza seca de la harina de Chía y el extracto de Moringa, lo que provoca la disminución de humedad del yogurt. Por otro lado, al incorporar la harina de Chía, el yogurt mejoro significativamente su contenido de grasa cruda y fibra. Esto era de esperarse ya que las semillas de Chía se caracterizan por su alto contenido de grasa cruda (30-33 %) y fibra cruda (10-30%) (Segura et al., 2014). Si comparamos los resultados obtenidos con los autores Jung et al. (2016), los cuales adicionaron ginseng rojo a diferentes concentraciones, donde su mayor concentración (2%), la cantidad de proteína, grasas, humedad y ceniza fue de  $4.73 \pm 0.30$ ,  $2.60 \pm 0.16$ ,  $84.43 \pm 0.15$  y  $0.95 \pm 0.01$  respectivamente, se logra observar que el yogurt con Chía y el yogurt Mix, tuvieron un mayor porcentaje de grasa y fibra. Los valores de composición química del yogurt reportados en este trabajo se encuentran dentro de los límites permisibles que maneja la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba (Tabla 17).

Tabla 17 Especificaciones fisicoquímicas del yogurt según la NOM-181-SCFI-2010

	Contenido	Método de Prueba
<b>Proteína Láctea.</b> (% m/m)	Mínimo 2,9%	Determinación de Proteína por Micro-Kjeldahl conforme a la NOM-155-SCFI-2003, numeral 8.5
<b>Grasa Butírica.</b> (% m/m)	Máximo 15,0%	Método de Caracterización de ácidos grasos conforme a la NMX-F-490-1987, (1987), Método para grasa butírica conforme a la NOM-086-SSA1-1994, (1994) Apéndice normativo C inciso 1.2 Hidrólisis alcalina

<b>Acidez titulable expresada % Ácido Láctico (% m/m)</b>	Mínimo 0,5%	Método de prueba de bacterias que fermentan los productos, del numeral 8 de la NMX-703-COFOCALEC-2004 o NOM-185-SSA1-2002, (2010) Apéndice normativo A inciso 1
<b>Sólidos Lácteos no grasos</b>	Mínimo 8,25%	Determinación de Sólidos no grasos conforme a la NOM-155-SCFI-2012, (2012), numeral 8.4

En cuanto a la evaluación sensorial, el yogurt adicionado con Moringa, el yogurt adicionado con Chía, el yogurt Mix y la muestra Control se clasificaron en términos de olor, color, sabor, textura y aceptación general, los resultados se presentan en la Tabla 18. Los puntajes bajos representan el menos deseable y los puntajes altos representan los rasgos más deseables (me gusta extremadamente (9) a me disgusta extremadamente (1), una puntuación de 5 representa ni me gusta ni me disgusta).

Tabla 18 Evaluación sensorial de yogures adicionados con ingredientes no lácteos

<b>Muestra</b>	<b>Olor</b>	<b>Color</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Aceptación General</b>
<b>Control</b>	6.84 ± 1.03 <sup>b</sup>	7.42 ± 0.91 <sup>b</sup>	6.20 ± 1.24 <sup>b</sup>	6.95 ± 1.01 <sup>b</sup>	6.75 ± 0.85 <sup>a</sup>
<b>Moringa</b>	6.80 ± 1.04 <sup>b</sup>	7.40 ± 0.98 <sup>b</sup>	4.91 ± 1.47 <sup>a</sup>	7.07 ± 0.85 <sup>b</sup>	6.15 ± 1.36 <sup>b</sup>
<b>Chía</b>	6.78 ± 1.06 <sup>b</sup>	6.76 ± 1.17 <sup>a</sup>	4.78 ± 1.50 <sup>a</sup>	6.13 ± 1.39 <sup>a</sup>	6.04 ± 1.32 <sup>b</sup>
<b>Mix</b>	6.27 ± 1.42 <sup>a</sup>	6.93 ± 1.15 <sup>a</sup>	5.95 ± 1.51 <sup>b</sup>	6.82 ± 1.01 <sup>b</sup>	5.95 ± 1.51 <sup>b</sup>

Letras diferente entre columnas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según Duncan (p<0.05)

El yogurt Mix tuvo los puntajes más bajos en los aspectos de olor, textura y aceptación general. En cambio, en términos de sabor recibió un puntaje más alto (5.95±1.51) a comparación de los yogures adicionados con Moringa y Chía (4.91 ± 1.47 y 4.78 ± 1.50 respectivamente). En el caso del yogurt adicionado con Moringa la puntuación baja en el aspecto del sabor es debido a la astringencia característica de la hoja de Moringa, causa de compuestos como los taninos, los cuales son conocidos por aportar astringencia a algunas bebidas fermentadas como son los vinos. En cuanto al aspecto de textura el yogurt adicionado con Moringa y el yogurt Mix tuvieron mayor puntaje, al igual que la muestra Control. Se dice que diferentes fuentes naturales mejora la textura y la viscosidad del yogurt, Cho et al., (2017), reportaron que el uso de polvo de oliva verde mejora significativamente la textura y viscosidad del yogurt, a causa de la fibra cruda que posee el olivo, por lo que se sigue que la fibra que contienen la Moringa y Chía, genera que el producto adquiera una mejor textura y aceptación del producto. En color, las muestras más representativas fueron Control y Moringa con puntajes más altos (7.42 ± 0.916 y 7.40 ± 0.981 respectivamente). También es importante rescatar que la adición de estos ingredientes, son una opción viable como alimento,

ya que los puntajes obtenidos están por arriba de la media que maneja la escala hedónica, cabe mencionar que los comentarios por parte de los panelistas fueron positivos acerca de los tratamientos presentados.

#### 4.1.3 Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante *in vitro* durante el tiempo de almacenamiento.

De manera general, dentro de cada periodo de almacenamiento se mostró un aumento del contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) cuando se utilizaron los ingredientes no lácteos (Figura 13). Letras diferentes en días de almacenamiento indican diferencias significativas entre tratamientos según Duncan ( $p < 0.05$ ).

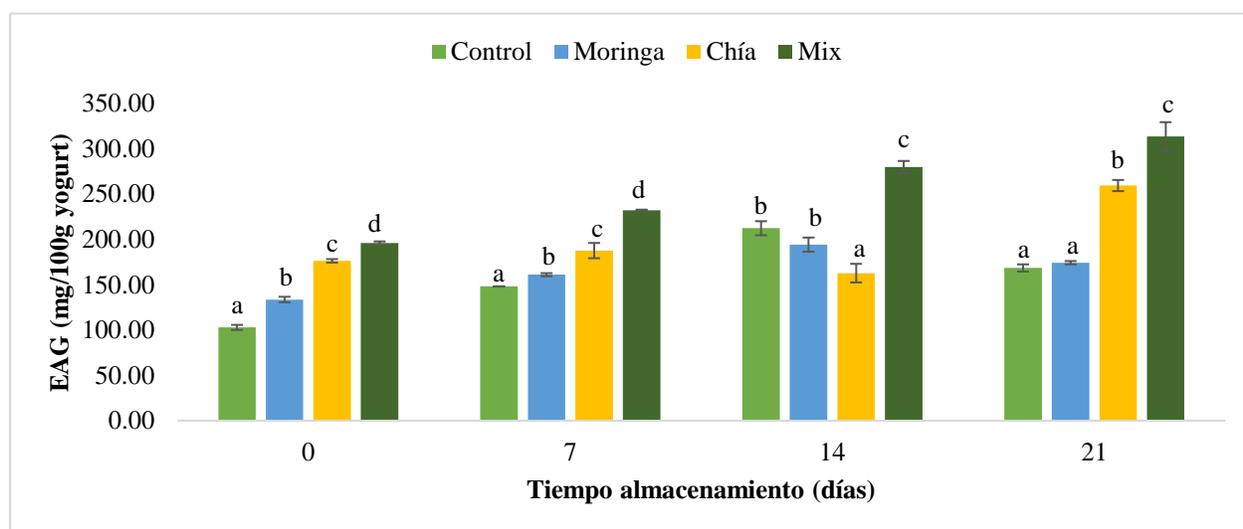


Figura 13 Contenido total de polifenoles durante el almacenamiento de yogurt adicionado con ingredientes no lácteos

El contenido de CFT aumentó gradualmente para todas las muestras durante el almacenamiento. Particularmente, el yogurt Mix, el cual mostró el contenido de CFT más alto ( $313.80 \pm 15.71$  mg EAG/g yogurt), seguido del yogurt adicionado con Chía ( $259.56 \pm 6.15$  mg EAG/g yogurt) al final del almacenamiento. El aumento de CFT de los productos adicionados con ingredientes no lácteos puede explicarse por el contenido de compuestos bioactivos que se encuentran de manera natural en la Chía y Moringa, como son los flavonoides (quercetina, kaempferol) y los ácidos hidroxicinámicos (ácido gálico, cafeico y clorogenico) (Kobus, Taczanowski, & Kmieciak, 2019; Nouman et al., 2016). En el caso del yogurt Control el aumento CFT durante el almacenamiento, se refleja la presencia de compuestos relacionados con la descomposición de las proteínas de la leche, en este caso, el aminoácido tirosina, posee en su estructura una cadena lateral fenólica, la

cual incrementa el contenido total de compuestos fenólicos del yogur (Sung et al., 2015). Se ha reportado en numerosos informes que el reactivo Folin-Ciocalteu, reacciona con otras moléculas a parte de los polifenoles, (Prior, Wu, & Schaich, 2005) de los cuales se incluyen proteínas, carbohidratos, aminoácidos, nucleótidos, algunos ácidos grasos, aldehídos y cetonas (Everette et al., 2010). Bastola et al. (2017) reportó que, dentro de los ácidos orgánicos, que reaccionan con Folin-Ciocalteu, está el ácido fórmico y dentro de los aminoácidos se encuentran la tirosina, el triptófano y la cisteína. Se indica que una proteína o péptido interfiere en la determinación de compuestos fenólicos solo cuando contienen altos porcentajes de tirosina y triptófano, esta interferencia es debido a la presencia de un hidroxilo altamente ionizable en el caso de la tirosina, en el caso del triptófano existe la presencia de un grupo imino, que son los que interactúan fuertemente con el reactivo Folin-Ciocalteu. Otra posibilidad de que el aumento del CFT de los yogures puede explicarse, es a la utilización microbiana de ácidos fenólicos como el ácido ferulico y  $\rho$ -cumárico durante el proceso de la fermentación y la post acidificación, conduciendo a una producción de ácidos fenólicos como el ácido vinílico o  $\rho$ -hidroxibenzoico, antes de que la estructura del anillo aromático se rompa (Blum, 1998).

En el caso de la actividad antioxidante por el método de ABTS, al final del almacenamiento, los yogures adicionados con ingredientes no lácteos mostraron actividades antioxidantes más altas que el yogurt Control. Este hecho se observa en la Figura 14. En particular el yogurt Mix el cual obtuvo un porcentaje de inhibición de  $97.03 \pm 1.11$  seguido del yogurt adicionado con Chía ( $93.35 \pm 1.26$ ). De acuerdo con (Velioglu, Mazza, Gao, & Oomah, 1998), las mayores actividades antioxidantes de los yogures es debido a la adición de extractos de plantas, en este caso, la semilla de Chía y la Moringa aportan ciertos compuestos bioactivos (flavonoides), que tienen la capacidad de reaccionar con el reactivo de ABTS. Se puede mencionar que los resultados obtenidos en el porcentaje de captación de radicales; se relacionan con los resultados CFT. Everette et al., (2010), describe que el método de Folin-Ciocalteu y el método de ABTS (Dudonné, Vitrac, Coutié, Woillez, & Mérillon, 2009), tienen una cierta relación, debido a que el método FC implica la transferencia de un solo electrón (SET), se cree que un único electrón se transfiere desde el sustrato, probablemente un fenol al Mo (VI) acomplejado en el reactivo. En este proceso, Mo (VI) se reduce a Mo(V) (Prior et al., 2005). Si este mecanismo es correcto, se espera que el producto inicial de la reacción a partir de un sustrato fenólico sea una semiquinona, Las semiquinona se han identificado como el producto inicial tras la reacción de los fenoles con el catión radical del ABTS.

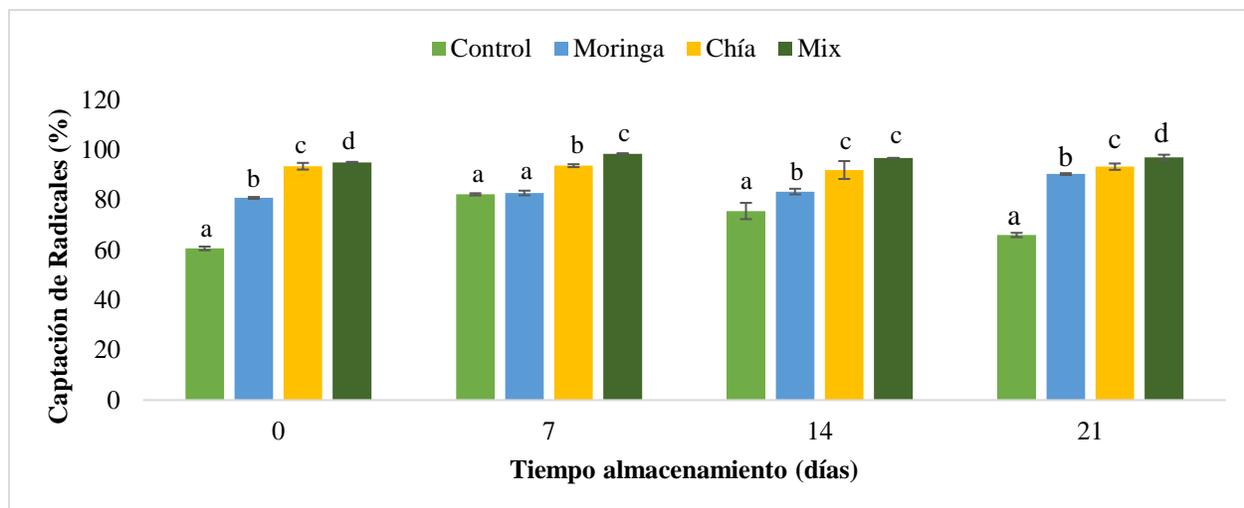


Figura 14 Actividad antioxidante durante el almacenamiento de los yogures adicionados con ingredientes no lácteos por el método ABTS

Por otro lado; los resultados de actividad antioxidante por el método de DPPH se muestran en la Figura 15. Las actividades antioxidantes de los tratamientos en el ensayo presentaron variaciones durante los 21 días de almacenamiento.

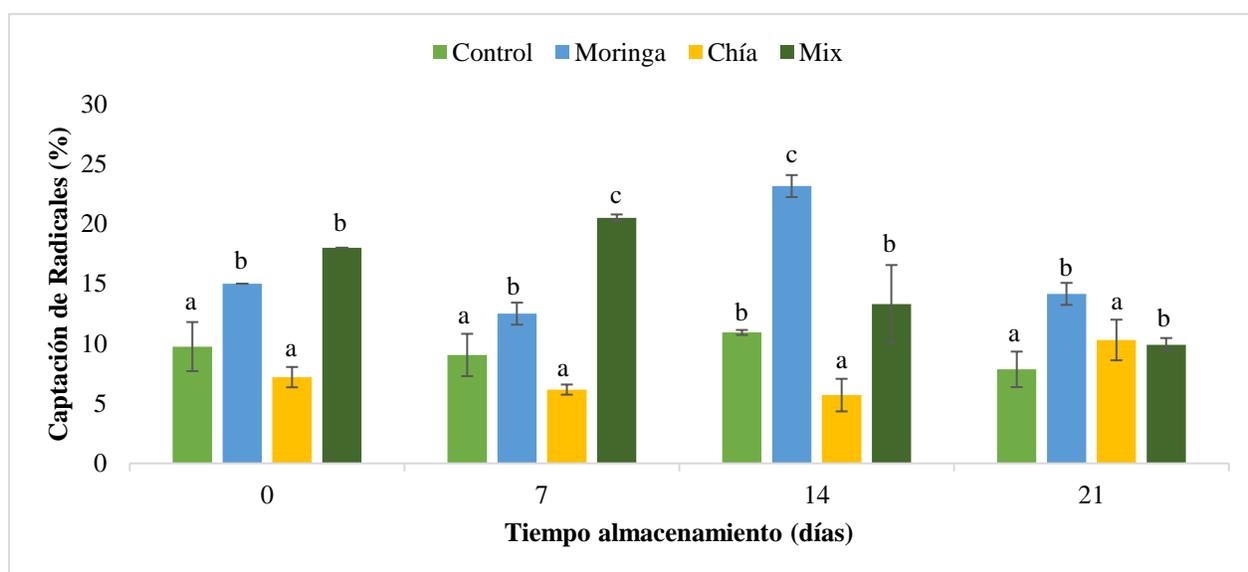


Figura 15 Actividad antioxidante durante el almacenamiento de los yogures adicionados con ingredientes no lácteos por el método DPPH

Letras diferentes en días de almacenamiento indican diferencias significativas entre tratamientos según Duncan ( $p < 0.05$ ).

Los tratamientos adicionados con Moringa (Mix y Moringa) resultaron con una mayor actividad antioxidante en el ensayo de DPPH, que el Control y el yogurt adicionado con Chía. Los mayores porcentajes de captación de radicales del yogur adicionado con Moringa se obtuvo en el día 14 de almacenamiento ( $23.15 \pm 0.91$ ), mientras que el yogurt Mix lo obtuvo en el día 7 de almacenamiento ( $20.50 \pm 0.28$ ). Diversos autores plantean que el aumento de la actividad antioxidante es debido a los metabolitos secundarios presentes en las plantas (compuestos bioactivos), en este caso la Moringa posee metabolitos como los flavonoides (catequina, rutina, quercetina) y algunos ácidos hidroxycinámicos (ácido gálico, cafeico y clorogenico) (Caicedo et al., 2019). Aunado a esto, según lo reportado por (Amirdivani & Baba, 2011) y (Şengül, Erkaya, Şengül, & Yildiz, 2012), aquellos yogures que están elaborados a base de plantas, presentan una alta actividad antioxidante a partir del día séptimo de almacenamiento; sin embargo las variaciones que pueda tener la actividad antioxidante en el ensayo de DPPH depende de varios factores, uno de ellos, es que aquellas moléculas con mayor peso molecular que se puedan encontrar en la matriz de la muestra en estudio, no pueda reaccionar con el radical DPPH, ya que las moléculas de menor peso molecular tienen un menor impedimento estérico para reaccionar con el radical (Mateos, 2013; Prior et al., 2005); otro factor que puede influir en la lectura de actividad antioxidante por este método, es que debido a que el DPPH es un radical de hidrogeno estable, no tiene afinidad con los radicales peroxilo implicados en la peroxidación lipídica; esto quiere decir que aquellos antioxidantes que reaccionan rápidamente con los radicales peroxilos pueden reaccionar lentamente o incluso ser inertes en el DPPH, debido a la insaciabilidad esteárica (Prior et al., 2005).

#### **4.1.4 Viabilidad de bacterias ácido lácticas y concentración de péptidos durante el tiempo de almacenamiento.**

La viabilidad de las bacterias ácido-lácticas se determinó por medio de conteo en placa, expresando los resultados en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). Los resultados obtenidos en el estudio de almacenamiento se muestran en la Figura 16. La viabilidad de las bacterias lácticas se vio significativamente afectadas por la adición de los ingredientes no lácteos en el tiempo de almacenamiento. El yogurt adicionado con Moringa presento un incremento del contenido de bacterias lácticas hasta el día 14 ( $3.0 \times 10^7$  UFC/mL) a comparación del Control. Mientras tanto los yogures compuestos por Chía presentaron una disminución en el contenido de UFC conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento.

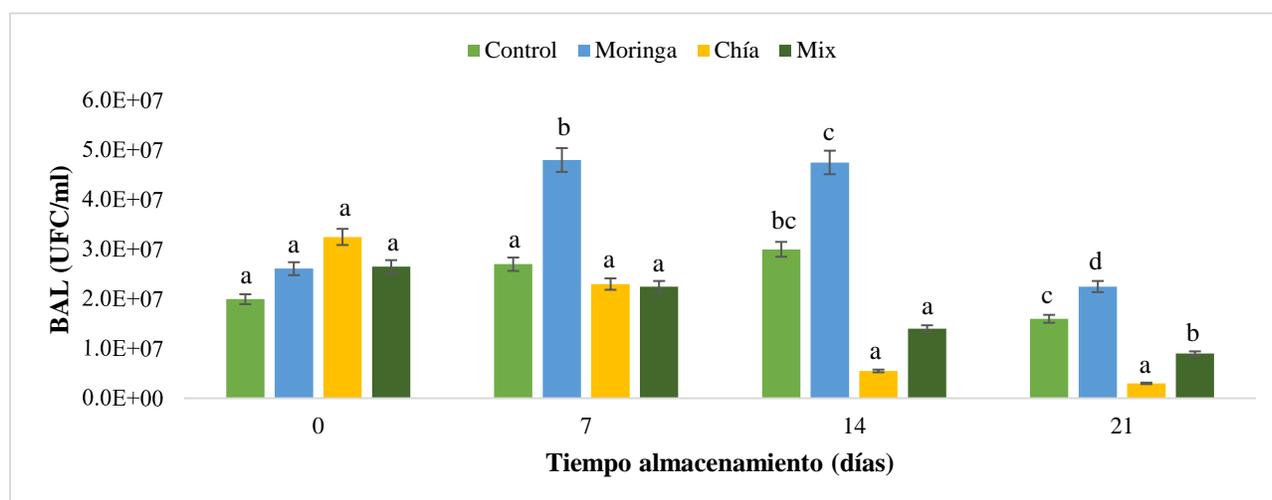


Figura 16 Cambios en el conteo de bacterias ácido-lácticas durante el almacenamiento de los yogures adicionados con ingredientes no lácteos  
 Letras diferentes en días de almacenamiento indican diferencias significativas entre tratamientos según Duncan ( $p < 0.05$ )

El aumento de la viabilidad microbiana del yogurt adicionado con Moringa, es atribuido a que algunos cultivos lácticos tienen la capacidad de usar compuestos (pequeños péptidos, vitaminas o minerales), durante su crecimiento en la fermentación y el almacenamiento (Lin, Hua, Xu, Li, & Ma, 2016). Se ha descubierto que algunos compuestos provenientes de las plantas como los azúcares reductores y algunos acetatos tienen la capacidad de aumentar la viabilidad bacteriana en los productos lácteos (Shori, 2013). Un ejemplo de este fenómeno, es el estudio que presento (Ye, Liu, Zhang, Yang, & Wang, 2012), donde se menciona que el uso de Te de *Litsea coreana L* en un yogurt, aumenta de manera significativa el número de bacterias lácticas e incluso existe una mejora en las características sensoriales (Lin et al., 2016). Por lo que se presume que los compuestos aportados por la Moringa aumentan el crecimiento de las bacterias lácticas del yogurt los primeros 14 días de almacenamiento en frío. Por otro lado, la disminución de la viabilidad bacteriana en el yogurt adicionado con Chía y el yogurt Mix, es atribuible a la acumulación de ácidos orgánicos (ácido láctico), a los niveles de oxígeno disuelto y al peróxido de hidrogeno (Donkor, Henriksson, Vasiljevic, & Shah, 2006) ;(Lin et al., 2016). De igual forma (Robinson, 2011) menciona que existe una disminución en la viabilidad de *S. thermophilus* cuando las condiciones de pH, llegan a alcanzar los valores de 4.3 – 4.5 en la tercer o cuarta semana de almacenamiento. Por lo tanto; la reducción del número de UFC durante el almacenamiento del yogurt adicionado con Chía y el yogurt Mix es atribuido a la post acidificación en el

almacenamiento. En los resultados presentados anteriormente en este apartado, el yogurt Mix y el yogurt adicionado con Chía obtuvieron los valores más altos en el porcentaje de ácido láctico, así como en los valores bajos de pH.

En cuanto al contenido de péptidos en el yogurt Control, el yogurt adicionado con Chía y Moringa y el yogurt Mix, durante el almacenamiento, la concentración peptídica se expresó en miligramos de leucina por cada 100 gramos de yogurt (mg Leucina/100g Yogurt). Los resultados se observan en la Figura 17.

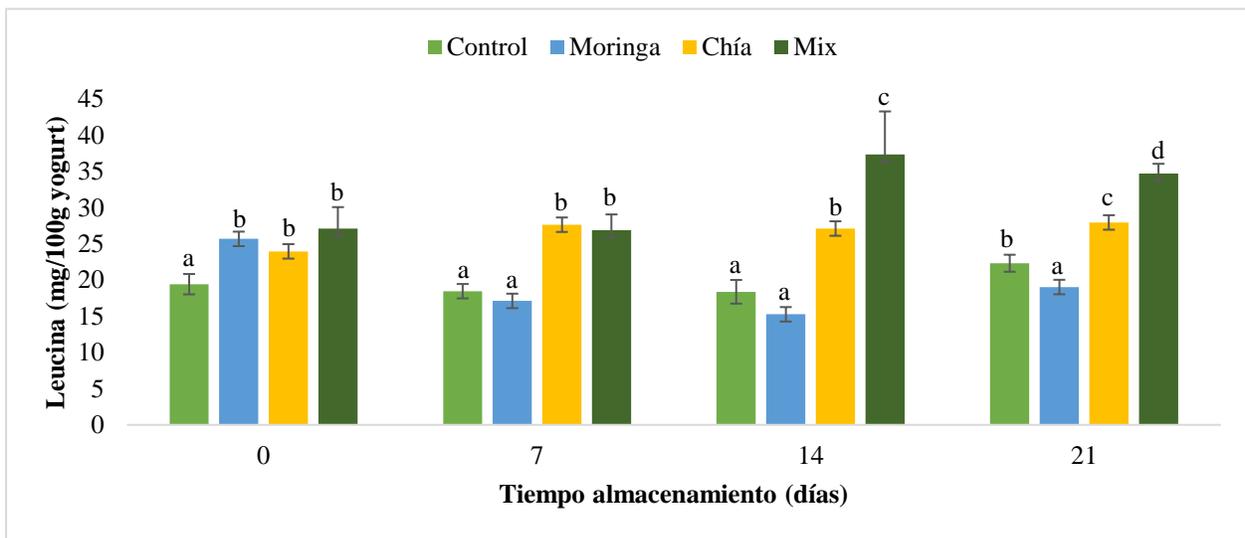


Figura 17 Concentración de péptidos durante el tiempo de almacenamiento de los yogures tratados durante el almacenamiento a 4°C

Letras diferentes en días de almacenamiento indican diferencias significativas entre tratamientos según Duncan ( $p < 0.05$ )

El yogurt Control y el yogurt adicionado con Moringa presentaron valores bajos de concentración de Leucina ( $22.31 \pm 1.17$  y  $19.03 \pm 0.24$  respectivamente) al final del almacenamiento, mientras que el yogurt Mix y el yogurt adicionado con Chía, presentaron las concentraciones más altas ( $34.71 \pm 1.33$  y  $27.94 \pm 0.43$  respectivamente). Varios autores mencionan que el yogurt es una fuente rica de péptidos bioactivos, que se forman durante el proceso de fermentación, los cuales pueden contar con cierta actividad antioxidante (Muniandy et al., 2016). La proteólisis de la leche por la acción de las bacterias ácido lácticas, está altamente asociada a la degradación de la proteínas por las proteinasas en polipéptidos que pueden incluso degradarse aún más en péptidos de pesos moleculares pequeños y aminoácidos libres (Shori et al., 2018), de igual forma la proteólisis puede

dar lugar a la formación de compuestos bioactivos como los ácidos fenólicos, algunas isoflavonas y flavonoides (Shori, 2013).

## **4.2 CONCLUSION**

El presente trabajo demuestra como el uso de ingredientes no lácteos (Moringa y Chía), se emplean efectivamente en la producción de un yogurt fortificado con compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes. El yogurt Mix presento mayor contenido de compuestos fenólicos totales y mayor actividad antioxidante (ABTS y DPPH), seguidos del yogurt adicionado con Chía y el yogur adicionado con Moringa respectivamente. En el caso del yogurt Control, la presencia significativa de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, es debido a la manifestación de péptidos generados en la protólisis de las bacterias lácticas durante el almacenamiento.

La adición de ingredientes no lácteos en el yogurt afecto de manera significativa las características de pH y acidez titulable durante la fermentación y el almacenamiento, especialmente en el yogurt Mix, donde el proceso de fermentación fue más lento en comparación con el yogurt con Chía y el yogurt con Moringa; por lo que se optó por un aumento de solidos totales (6.5 % p/v leche en polvo), se sabe que el aumento de solidos ayuda a la consistencia y viscosidad, propiedades relacionadas con la disminución de pH y la formación de ácido láctico. En el periodo de almacenamiento, los yogures adicionados con ingredientes no lácteos presentaron una disminución de pH y un aumento del porcentaje de ácido láctico al final del almacenamiento; especialmente el yogurt Mix y el yogurt con Chía.

En cuanto a la composición química proximal, la incorporación de estos componentes aportó significativamente al valor nutricional de los yogures, existiendo un aumento en el contenido de fibra, proteína y ácidos grasos. El contenido químico proximal de los productos elaborados con ingredientes no lácteos están dentro de la normativa NOM-181-SCFI-2010.

En el análisis sensorial de los productos la presencia de la Moringa y Chía tuvo una influencia significativa en las características de olor, color, sabor, textura y aceptación general, en este último se obtuvo un puntaje cercano a 6 de la escala hedónica de 9 puntos, correspondiente a un “Me gusta ligeramente”.

La viabilidad de las bacterias lácticas al final del almacenamiento disminuyo en todos los tratamientos. Se destaca el yogurt adicionado con Moringa, ya que existió una mejora en la

viabilidad microbiana en comparación al Control los primeros días de almacenamiento. estableciendo que la Moringa es una alternativa para enriquecer el crecimiento celular de las bacterias ácido-lácticas.

## REFERENCIAS

A.O.A.C. (13 de Junio de 1997). Normas de Buenas Prácticas de Manufactura. Obtenido de <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18835es/s18835es.pdf>

Abo-Elnaga, I. G., & Hegazi, F. Z. (1981). Factors influencing the production of acetoin and diacetyl by lactic acid bacteria in skim milk. *Food / Nahrung*, 25(9), 883–889. <https://doi.org/10.1002/food.19810250911>

Abou-Donia, S. A., Ismail, A. A., El-Soda, M. A., Mashaly, R., & El-Shafy, H. K. (1984). Biochemical activities of lactic acid bacteria in Zabady. *Journal of Dairy Science* (37), 172.

Aja, P. M., Ibiam, U. A., Uraku, A. J., Orji, O. U., Offor, C. E., & Nwali, B. U. (2013). Comparative Proximate and Mineral Composition of *Moringa oleifera* Leaf and Seed. 2(5), 137–141.

Aleixandre, M., & Quiñones, M. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76–89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>

Alenisan, M. A., Alqattan, H. H., Tolbah, L. S., & Shori, A. B. (2017). Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: A review. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 24, 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.jaubas.2017.05.001>

Amirdivani, S., & Baba, A. S. (2011). Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6), 1458–1464. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.019>

Ashour, M., El-Zayat, A. I., Rabie, A. H., & Gouda, A. (1985). *Egyptian Journal of Food Science*, (13), 137.

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494, 161-172.

Ayaz, A., Akyol, A., Inan-Eroglu, E., Cetin, A. K., Samur, G., & Akbiyik, F. (2017). Chia seed (*Salvia hispanica L.*) added yogurt reduces short-term food intake and increases satiety: Randomised controlled trial. *Nutrition Research and Practice*, 11(5), 412–418. <https://doi.org/10.4162/nrp.2017.11.5.412>

Bastola, K. P., Guragain, Y. N., Bhadriraju, V., & Vadlani, P. V. (2017). Evaluation of Standards and Interfering Compounds in the Determination of Phenolics by Folin-Ciocalteu Assay Method for Effective Bioprocessing of Biomass. *American Journal of Analytical Chemistry*, 08(06), 416–431. <https://doi.org/10.4236/ajac.2017.86032>

Bernardino, E. G. J. B. (2004). Productos Lácteos: La Ruta De La Metamorfosis. *Revista Digital Universitaria*, 5(7), 14. Retrieved from <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art89/int89.htm>

Bertolino, M., Belviso, S., Dal Bello, B., Ghirardello, D., Giordano, M., Rolle, L., ... Zeppa, G. (2015). Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 1145–1154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.113>

Bianchi-Salvadori, B., Camaschella, P., & Cislighi, S. (1995). Rapid enzymatic method for biotyping and control of lactic acid bacteria used in the production of yogurt and some cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 27(2–3), 253–261. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(95\)00029-J](https://doi.org/10.1016/0168-1605(95)00029-J)

Billard, I., Mekki, S., Ouadi, A., Gaillard, C., Trubert, D., & Moutiers, G. (2007). TTA solvation kinetics in the ionic liquid BumimTf2N. *Comptes Rendus Chimie*, 10(10–11), 1117–1121. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2007.04.007>

Blum, U. (1998). Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acid breakdown products on allelopathic interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 24(4), 685–708. <https://doi.org/10.1023/A:1022394203540>

- Brabandere, A. G. De, & Baerdemaeker, J. G. De. (1999). Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation. *Journal of Food Engineering*, 41(1), 221–227. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(83\)81926-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(83)81926-2)
- Caicedo, L. H., Luzardo, I., Cuellar, M. L., Campos, R., Mendoza, S., & Loarca, G. (2019). Effect of the in vitro gastrointestinal digestion on free-phenolic compounds and mono/oligosaccharides from *Moringa oleifera* leaves: Bioaccessibility, intestinal permeability and antioxidant capacity. *Food Research International*, 120, 631–642. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.017>
- Calderón, M., Delgado, A., Aponte, M., Herrera, I., Jiménez, Y., Ramírez, Z., & Toro, Y. (2008). *Fitoquímicos*. (M. d. Salud, Ed.) Instituto Nacional de Nutrición.
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Caroch, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: a comparative study between natural and synthetic additives. *Food Chemistry*, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.114>
- Cho, W., Yeon, S., Hong, G., & Kim, J. (2017). Antioxidant Activity and Quality Characteristics of Yogurt Added Green Olive Powder during Storage. 37(6), 865–872.
- Coelho, M. S., & Salas, M. D. M. (2014). Chemical Characterization of Chia (*Salvia hispanica L.*) for Use in Food Products. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(5), 263–269. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-5-9>
- Cuellar, M. L., Luzardo, I., Campos, R., Gallegos-, M. A., González de Mejía, E., & Loarca, G. (2018). Physicochemical and nutraceutical properties of moringa (*Moringa oleifera*) leaves and their effects in an in vivo AOM/DSS-induced colorectal carcinogenesis model. *Food Research International*, 105, 159–168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.004>
- Devisetti, R., Sreerama, Y. N., & Bhattacharya, S. (2015). Processing effects on bioactive components and functional properties of moringa leaves: development of a snack and quality evaluation. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 647–657. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1962-5>

Díaz, T., & Rubio, A. A. (2016). Desarrollo de un producto de yogurt bebible a base de leche con sabor cereza. Tesis Colectiva, Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas, Toluca, México.

Ding, Y., Lin, H. W., Lin, Y. L., Yang, D. J., Yu, Y. S., Chen, J. W., ... Chen, Y. C. (2018). Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.012>

Doi, E., Shibata, D., & Matoba, T. (1981). Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay. *Analytical Biochemistry*, 118(1), 173–184. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90175-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90175-5)

Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16(10), 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.008>

Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768–1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>

Einbock, S. (28 de Junio de 2016). openPR: Worldwide Public Relations. Recuperado el 05 de Marzo de 2019, de North America Yogurt Market to Expand at 8.2% CAGR from 2013 to 2019, Adoption of Healthy Food Choices Benefits Market: <https://www.openpr.com/news/336854/North-America-Yogurt-Market-to-Expand-at-8-2-CAGR-from-2013-to-2019-Adoption-of-Healthy-Food-Choices-Benefits-Market.html>

El-Said, M. M., Haggag, H. F., Fakhr El-Din, H. M., Gad, A. S., & Farahat, A. M. (2014). Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(2), 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2014.11.007>

Everette, J., Bryant, Q., Green, A., Abbey, Y., Wangila, G., & Walker, R. (2010). A Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes Towards the Folin-Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139–8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935.A>

Farzana, T., Mohajan, S., Saha, T., Hossain, N., & Haque, Z. (2017). Formulation and nutritional evaluation of a healthy vegetable soup powder supplemented with soy flour, mushroom, and moringa leaf. *Food Science & Nutrition*, 5(November 2016), 1–10. <https://doi.org/10.1002/fsn3.476>

Folashade, I., Eniola, T., & Olayemi, A. (2017). Nutritive value and acceptability of bread fortified with moringa seed powder. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 0–5. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.05.002>

Fox, P. F., & McSweeney, P. L. (1988). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Ireland: Springer Science & Business Media.

García, J. A. (2007). Identificación de Bacterias Ácido-Lácticas Mediante Perfiles de Fermentación y Ribotipificación.

Hecker, K. D., Kris-Etherton, P. M., Binkoski, A. E., Bonanome, A., Etherton, T. D., Griel, A. E., ... Hilpert, K. F. (2003). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9), 71–88. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00995-0)

Hegazi, F. Z., & Abo-Elnaga, I. G. (1989). *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 85, 322.

Hekmat, S., Morgan, K., Soltani, M., & Gough, R. (2015). Sensory evaluation of locally grown fruit purees and inulin fibre on probiotic yogurt in Mwanza, Tanzania and the microbial analysis of probiotic yogurt fortified with *Moringa oleifera*. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 33(1), 60–67.

Hernández, A. (2003). *Microbiología Industrial*. Costa Rica: EUNED.

Hernández, M., & Vélez, J. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2, 13–22.

Ibarra, J. A. (2007). Identificación de bacterias ácido-lácticas mediante perfiles de fermentación y ribotipificación. Tesis, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Pachuca de Soto, México.

IKASTETXEA. (23 de Junio de 2019). ANUNCIATA IKASTETXEA. Obtenido de ANUNCIATA IKASTETXEA: <http://laanunciataikerketa.com/>

Jaramillo, Y. (2013). La chía (*Salvia hispanica L.*), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos saludables.

Jiménez, A., Rodríguez, R., Fernández, I., Guillén, R., Fernández, J., & Heredia, A. (2000). Dietary fibre content of table olives processed under different European styles: Study of physico-chemical characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1903–1908. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200010\)80:13<1903:AID-JSFA720>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200010)80:13<1903:AID-JSFA720>3.0.CO;2-N)

Jiménez, E., Guapillo, M., Ceballos, G., & Méndez, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Rev Med UV*, (272). Retrieved from [https://www.uv.mx/rm/num\\_anteriores/revmedica\\_vol10\\_num2/articulos/radicales.pdf](https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf)

Jin, F., Nieman, D. C., Sha, W., & Xie, G. (2012). Supplementation of Milled Chia Seeds Increases Plasma ALA and EPA in Postmenopausal Women Association of Official Agricultural Chemists. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(2), 105–110. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0286-0>

Jordá, A. (2015). Los compuestos fenólicos como antioxidantes naturales para superar situaciones de estrés abiótico. Retrieved from [http://www.infoagro.com/documentos/los\\_compuestos\\_fenolicos\\_como\\_antioxidantes\\_naturales\\_superar\\_situaciones\\_estres\\_abiotico.asp](http://www.infoagro.com/documentos/los_compuestos_fenolicos_como_antioxidantes_naturales_superar_situaciones_estres_abiotico.asp)

Joung, J. Y., Lee, J. Y., Ha, Y. S., Shin, Y. K., Kim, Y., Kim, S. H., & Oh, N. S. (2016). Enhanced Microbial, Functional and Sensory Properties of Herbal Yogurt Fermented with Korean Traditional Plant Extracts. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(1), 90–99. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.1.90>

Juhaimi, F., Ghafoor, K., Ahmed, I. A. M., Babiker, E. E., & Özcan, M. M. (2017). Comparative study of mineral and oxidative status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* leaves. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 1745–1751. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9555-9>

Jung, J., Paik, H.-D., Yoon, H. J., Jang, H. J., Jeewanthi, R. K. C., Jee, H.-S., ... Lee, S.-K. (2016). Physicochemical Characteristics and Antioxidant Capacity in Yogurt Fortified with Red Ginseng

Extract. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 36(3), 412–420.  
<https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.3.412>

Kang, S., Yu, M., Kim, J., Park, S., Lee, C., Lee, H., & Kim, S. (2018). Biochemical, Microbiological, and Sensory Characteristics of Stirred Yogurt Containing Red or Green Pepper (*Capsicum annuum* cv. *Chungyang*) Juice. 38(3), 451–467.  
<https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.38.3.451>

Kneife, W., Ulberth, F., Erhard, F., & Taros, D. (1992). *Milchwissenschaft* (47), 362.

Kobus, J., Taczanowski, M., & Kmiecik, D. (2019). The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds: Current State of Knowledge. *Nutrients*, 11(6), 1–16.

Kuikman, M., & O'Connor, C. P. (2015). Sensory Evaluation of Moringa -Probiotic Yogurt Containing Banana, Sweet Potato or Avocado. *Journal of Food Research*, 4(5), 165.  
<https://doi.org/10.5539/jfr.v4n5p165>

Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2015). Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 12791–12835.  
<https://doi.org/10.3390/ijms160612791>

Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2016). *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms17122141>

Lin, J., Hua, B., Xu, Z., Li, S., & Ma, C. (2016). The impact of proteolytic pork hydrolysate on microbial, flavor and free amino acids compounds of yogurt. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, 36(4), 558–565. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.4.558>

López, L., & Suárez, M. (2001). *Alimentación saludable. Guía práctica para su realización*. Buenos Aires, Argentina: Librería Akadia.

Luca, C. (1974). Improvement of yogurt quality: Lactic acid bacteria and proteolysis of nitrogenous compound. *Dairy Science Abstracts* (36), 633.

- Mabusela, S. P., Nkukwana, T. T., Mokoma, M., & Muchenje, V. (2018). Layer performance, fatty acid profile and the quality of eggs from hens supplemented with *Moringa oleifera* whole seed meal. *South African Journal of Animal Science*, 48(2), 234. <https://doi.org/10.4314/sajas.v48i2.4>
- Mahfuz, S., & Piao, X. S. (2019). Application of Moringa (*Moringa oleifera*) as Natural Feed Supplement in Poultry Diets. *Animal Feed Science and Technology*, 9, 431. <https://doi.org/10.3390/ani9070431>
- Manaois, R. V, Morales, A. V, & Ramos, R. G. (2014). Acceptability, Shelf Life and Nutritional Quality of Moringa-Supplemented Rice Crackers. *Philippine Journal of Crop Science*, 38(May), 1–8.
- Marcinek, K., & Krejpcio, Z. (2017). Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications – a review. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 68(2), 123–129.
- Mart, M. S. (2003). Estandarización de la producción de la mezcla base para yogur batido en la planta de lácteos de Zamorano.
- Martínez, O., & Paredes, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra-high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.007>
- Mastellone, P. (2007). Proceso de Elaboración del Yogur y Selección de la Leche.
- Mateos, M. L. (2013). Relación estructura/actividad de proantocianidinas obtenidas de diversas fuentes naturales de origen vegetal. Retrieved from <http://www.tdx.cat/handle/10803/132159>
- Mbailao, M., Mianpereum, T., & Ngakou, A. (2014). Proximal and Elemental Composition of *Moringa oleifera* (Lam) Laves from Three Regions of Chad. *Journal of Food Resource Science*, 3(1), 12–20.
- Merca2.0. (04 de Abril de 2018). Merca2.0. Recuperado el 05 de Marzo de 2019, de Producción de lácteos en México: <https://www.merca20.com/produccion-de.lacteos-en-Mexico/>
- Ministerio. (2015). La Leche y los Productos Lácteos. Chile: Reglamento Sanitario de los Alimentos.

Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2012). Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Science*, 91(4), 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.029>

Muchenje, V., Afolayan, A. J., Mukumbo, F. E., Falowo, A. B., Idamokoro, E. M., & Lorenzo, J. M. (2018). Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. *Food Research International*, 106(October 2017), 317–334. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.079>

Muniandy, P., Shori, A. B., & Baba, A. S. (2016). Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.02.002>

Nachev, L. (1970). *Dairy Science Abstracts*, (32), 181.

Nadeem, M., Abdullah, M., Khalique, A., Hussain, I., Mahmud, A., & Inayat, S. (2013). The Effect of *Moringa oleifera* Leaf Extract as Antioxidant on Stabilization of Butter Oil with Modified Fatty Acid Profile. *J. Agr. Sci. Tech.*, 15, 919–928.

NMX-F-490-1987. (1987). Alimentos para humanos. Determinación de la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases en aceites y grasas.

NOM-086-SSA1-1994. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. *Diario Oficial de La Federación*, 33.

NOM-155-SCFI-2012. (2012). Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.

NOM-181-SCFI-2010. (2010). Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba.

NOM-185-SSA1-2002. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-185-SSA1-2002, Productos y servicios. lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. 1–65.

- Nouman, W., Anwar, F., Gull, T., Newton, A., Rosa, E., & Domínguez, R. (2016). Profiling of polyphenolics, nutrients and antioxidant potential of germplasm's leaves from seven cultivars of *Moringa oleifera* Lam. *Industrial Crops and Products*, 83, 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.032>
- Nwakalor, C. (2014). Sensory evaluation of cookies produced from different blends of wheat and *Moringa oleifera* leaf flour. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(4), 307–310. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20140304.21>
- Ochi, E., Ismail, A. O., & Fatur, M. F. (2015). Effect of Moringa (*Moringa oleifera* Lam) Seeds on the Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens. (August).
- Ogunsina, B. S., Radha, C., & Indrani, D. (2011). Quality characteristics of bread and cookies enriched with debittered *Moringa oleifera* seed flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(2), 185–194. <https://doi.org/10.3109/09637486.2010.526928>
- Olivos, B., Valdivia, M., & Tecante, A. (2010). Thermal and Physicochemical Properties and Nutritional Value of the Protein Fraction of Mexican Chia Seed (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology International*, 16(1), 89–96. <https://doi.org/10.1177/1082013209353087>
- Olson, M. E., & Fahey, J. W. (2011). *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas *Moringa oleifera*: a multipurpose tree for the dry tropics. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, 1071–1082.
- Oyeyinka, A. T., & Oyeyinka, S. A. (2018). *Moringa oleifera* as a food fortificant: Recent trends and prospects. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.02.002>
- Pastrana, M. M. (2011). Generalidades de la Leche y los Productos Lácteos. En C. N. Leche., Libro blanco sobre la leche y los productos lácteos (págs. 20-40). México: CANILEC.
- Paulsen, B. S. (2010). Highlights through the history of plant medicine. In *Bioactive compounds in plants - benefits and risks for man and animals* (Vol. 50).
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic Compounds in Food.

Pérez, N., & Jiménez, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal*, 11(4), 195–211. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b19013>

Porras, A., & López, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 121-134.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Ramírez, J., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J., & Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, (7), 16. <https://doi.org/10.1002/jmri.22293>

Revenga, J. (10 de Abril de 2013). Gominolas de Petróleo. Recuperado el 23 de Enero de 2018, de ¿Cuánto dura realmente un yogur?: <http://www.gominolasdepetroleo.com/2013/04/cuanto-dura-realmente-un-yogur.html>

Reyes, E., Tecante, A., & Valdivia, M. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. *Food Chemistry*, 107, 656–663. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.062>

Robinson, R. K. (2011). Yogurt: Types and Manufacture. *Encyclopedia of Dairy Sciences: Second Edition*, 2, 525–528. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00189-8>

Rodríguez, C., Quirantes, R., Fernández, A., & Segura, A. (2015). Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, 66, 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.002>

Romero del Castillo, R., & Mestres, J. (2004). *Productos Lácteos. Tecnología*. Catalunya: Univ. Politec. de Catalunya.

Saini, R. K., Sivanesan, I., & Keum, Y. S. (2016). Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. *3 Biotech*, 6(2), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0526-3>

Salem, A. S., Salama, W. M., Hassanein, A. M., & El-Ghandour, H. M. A. (2013). Enhancement of nutritional and biological values of labneh by adding dry leaves of *Moringa oleifera* as

innovative dairy products. *World Applied Sciences Journal*, 22(11), 1194–1602. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.22.11.13024>

Santillán, Á., Dublán, O., López, L. X., Quintero, B., Gómez, L. M., Díaz, D., & Hernández, M. D. (2017). Effect of Chia Seed on Physicochemical and Sensory Characteristics of Common Carp Restructured as Functional Food. *Journal of Food Science and Engineering*, 7(3), 115–126. <https://doi.org/10.17265/2159-5828/2017.03.001>

Sargi, S. C., Silva, B. C., Munise, H., Santos, C., Montanher, P. F., Boeing, J. S., ... Visentainer, J. V. (2013). Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega 3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*, 33(3), 541–548.

Saucedo, S., Torres, J. A., Castro, C., Rojas, R., Sánchez, E. J., Ngangyo, M., & Martínez, G. C. G. (2018). Moringa plants: Bioactive compounds and promising applications in food products. *Food Research International*, 111(2017), 438–450. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.062>

Schmidt, K. F. (1988). *Elaboración artesanal de mantequilla, yogur y queso*. España: Acribia S.A.

Scott, T. A., Combs, D. K., & Grummer, R. R. (1991). Effects of Roasting, Extrusion, and Particle Size on the Feeding Value of Soybeans for Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 74(8), 2555–2562. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78433-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78433-6)

Segura, M. R., Ciau, N., Rosado, G., Chel, L., & Bentacur, D. (2014). Chemical and functional properties of chia seed (*Salvia hispanica L.*) gum. *International Journal of Food Science*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/241053>

Segura, M. R., Salazar, I. M., Chel, L. A., & Betancur, D. A. (2013). Biological potential of chia (*Salvia hispanica L.*) protein hydrolysates and their incorporation into functional foods. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 723–731. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.017>

Sengev, A. I., Abu, J. O., & Gernah, D. I. (2013). Effect of *Moringa oleifera* Leaf Powder Supplementation on Some Quality Characteristics of Wheat Bread. 2013(March), 270–275.

Şengül, M., Erkaya, T., Şengül, M., & Yildiz, H. (2012). The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 429–436. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2012.00838.x>

- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., & Mir, S. A. (2015). Effect of *Moringa oleifera* leaf extract on the physicochemical properties of modified atmosphere packaged raw beef. *Food Packaging and Shelf Life*, 3, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2014.10.001>
- Shih, M. C., Chang, C. M., Kang, S. M., & Tsai, M. L. (2011). Effect of different parts (leaf, stem and stalk) and seasons (summer and winter) on the chemical compositions and antioxidant activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 6077–6088. <https://doi.org/10.3390/ijms12096077>
- Shori, A. (2013). Antioxidant activity and viability of lactic acid bacteria in soybean-yogurt made from cow and camel milk. *Journal of Taibah University for Science*, 7(4), 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2013.06.003>
- Shori, A., Rashid, F., & Baba, A. S. (2018). Effect of the addition of phytomix-3+ mangosteen on antioxidant activity, viability of lactic acid bacteria, type 2 diabetes key-enzymes, and sensory evaluation of yogurt. *Lwt*, 94, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.032>
- Singh, I., & Kaul, A. (1982). *Egyptian Journal of Dairy Science*, (10), 129.
- Sung, J.-M., Kim, Y.-B., Kum, J.-S., Choi, Y.-S., Seo, D.-H., Choi, H.-W., & Park, J.-D. (2015). Effects of Freeze-dried Mulberry on Antioxidant Activities and Fermented Characteristics of Yogurt during Refrigerated Storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(6), 807–814. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.6.807>
- Sun-Waterhouse, D., Zhou, J., & Wadhwa, S. S. (2013). Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. *Food Control*, 32(2), 450–460. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.01.011>
- Taiwo, P., Philip, O., & Alikwe, C. N. (2014). Proximate Analysis and Chemical Composition of Raw and Defatted *Moringa oleifera* Kernel. 24(January 2014), 92–100.
- Tamime, A. Y., & Deeth, H. C. (1980). Yogurt: Technology and Biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43(12), 939–977. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-43.12.939>
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2007). Biochemistry of fermentation. In *Yoghurt: science and technology* (Third edit). <https://doi.org/10.1533/9781845692612.535>

Tamime, A., & Robinson, R. (1991). *Yoghurt: science and technology* (1° ed.). Zaragoza, España: Acriba.

Teresinha, R., Guidetti, R., Araújo, M. De, José, A., Ragagnin, C., Menezes, D., ... Campagnol, B. (2017). Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy n-6/n-3 PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties? *Meat Science*, 130(March), 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.03.010>

Thomopoulos, C., Tzia, C., & Milkas, D. (1993). *Milchwissenschaft* (48), 426.

Ullah, R., Nadeem, M., & Imran, M. (2017). Omega-3 fatty acids and oxidative stability of ice cream supplemented with olein fraction of chia (*Salvia hispanica L.*) oil. *Lipids in Health and Disease*, 16(34), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0420-y>

Valdez, M. A., Mejía, V. Y., Téllez, A., García, G., Salas, J., Alba, J. J., & Sierra, E. (2015). Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of *Moringa oleifera* grown in Mexico. *Journal of Chemistry*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/860381>

Velázquez, M., Jiménez, M. A., Zepeda, R., & Peón, I. E. (2016). Moringa (*Moringa oleifera Lam.*): usos potenciales en la agricultura, industria y medicina. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XXII (2), 95–116. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.07.018>

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113–4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>

Vera, M. (2011). Elaboración Y Aplicación Gastronómica Del Yogur. Pagina Web, 242. Retrieved from file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/tgas18 (1).pdf

Wei, X., Luo, M., Xu, L., Zhang, Y., Lin, X., Kong, P., & Liu, H. (2011). Production of fibrinolytic enzyme from bacillus amyloliquefaciens by fermentation of chickpeas, with the evaluation of the anticoagulant and antioxidant properties of chickpeas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3957–3963. <https://doi.org/10.1021/jf1049535>

Xingú, A., González, A., De La Cruz, E., Sangerman, D. M., Orozco, G., & Rubí, M. (2017). Chía (*Salvia hispanica L.*), situación actual y tendencias futuras. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(7), 1619. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i7.516>

- Yaygin, H. (1982). XXI International Dairy Congress, 1, 302.
- Ye, M., Liu, D., Zhang, R., Yang, L., & Wang, J. (2012). Effect of hawk tea (*Litsea coreana* L.) on the numbers of lactic acid bacteria and flavour compounds of yoghurt. *International Dairy Journal*, 23(1), 68–71. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.09.014>
- Yu, H.-S., Lee, N.-K., Jeon, H.-L., Eom, S. J., Yoo, M.-Y., Lim, S.-D., & Paik, H.-D. (2016). Benzoic Acid Production with Respect to Starter Culture and Incubation Temperature during Yogurt Fermentation using Response Surface Methodology. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 427–434. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.3.427>
- Yu, J. H., & Chung, E. Y. (1986). *Dairy Science Abstracts*, 48, 340.
- Zettel, V., & Hitzmann, B. (2018). Applications of chia (*Salvia hispanica* L.) in food products. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.011>
- Zongo, U., Zoungrana, S. L., Savadogo, A., & Traoré, A. S. (2014). Nutritional and Clinical Rehabilitation of Severely Malnourished Children with *Moringa oleifera* Lam. Leaf Powder in Ouagadougou (Burkina Faso). *Food and Nutrition Sciences*, 04(09), 991–997. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.4912>

## ANEXOS

### Materia prima y productos finales

#### Materia prima



Harina de Moringa



Extracto Seco (ES) de Moringa



Harina de Chía

#### Producto Final



Yogur Control



Yogur adicionado con Moringa (ES 0.1%)



Yogur adicionado con Chía (0.5%)



Yogur Mix  
(0.1% Moringa + 0.5% Chía)

## Escala hedónica de 9 puntos

Tabla 19 Escala hedónica

Puntaje	Categoría	Puntaje	Categoría
1	me disgusta extremadamente	6	me gusta levemente
2	me disgusta mucho	7	me gusta moderadamente
3	me disgusta moderadamente	8	me gusta mucho
4	me disgusta levemente	9	me gusta extremadamente
5	no me gusta ni me disgusta		

## Curvas patrón

### Curva patrón de Ácido Gálico para determinar CFT

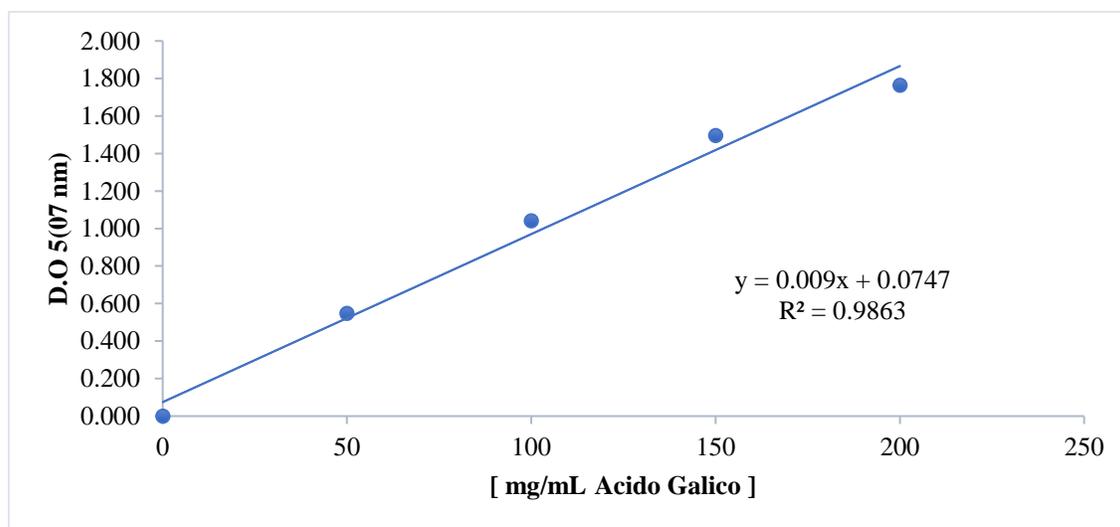


Figura 18 Curva patrón equivalente a ácido gálico

### Curva patrón de Leucina para determinar concentración peptídica

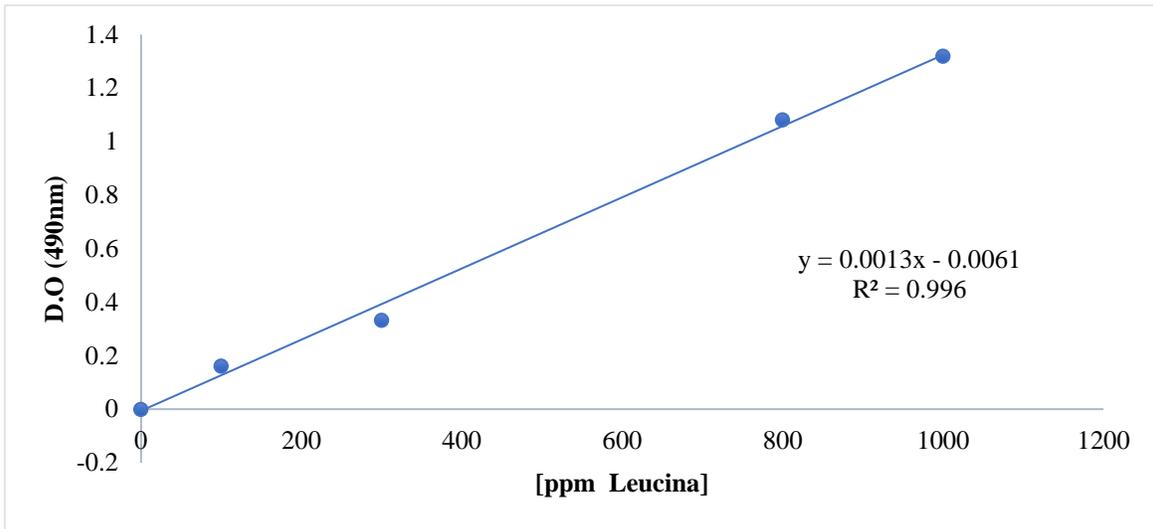


Figura 19 Curva patrón de Leucina