



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

No. 00162

Matrícula: 2143808139

FORMULACION DE UN ALIMENTO FUNCIONAL:
DULCE DE MAIZ PIGMENTADO ENRIQUECIDO CON HARINA DE AMARANTO Y FERMENTADO CON PROBIOTICOS.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 18 del mes de abril del año 2016 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. MARCO ANTONIO GERARDO RAMIREZ ROMERO
DRA. SARA HIRAN MORAN BAÑUELOS
DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

siendo los primeros asesores de la alumna y lector el tercero, de la Idónea Comunicación de Resultados, se reunieron a evaluar la presentación cuya denominación aparece al margen, para la obtención del diploma de:

ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA

DE: AIDA GUADALUPE PEREZ VILCHIS

y de acuerdo con el artículo 79 fracción II del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, se comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



AIDA GUADALUPE PEREZ VILCHIS
ALUMNA

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

ASESOR

DR. MARCO ANTONIO GERARDO RAMIREZ ROMERO

ASESORA

DRA. SARA HIRAN MORAN BAÑUELOS

LECTOR

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

FORMULACIÓN DE UN ALIMENTO FUNCIONAL:

**DULCE DE MAÍZ PIGMENTADO ENRIQUECIDO CON HARINA DE AMARANTO Y
FERMENTADO CON PROBIÓTICOS.**

T E S I S

Para obtener el grado de

ESPECIALISTA EN BIOTECNOLOGIA

Presenta

I.A. AÍDA GUADALUPE PÉREZ VILCHIS

Asesores

Dr. Marco Antonio Gerardo Ramírez Romero

Dra. Sara Hirám Morán Bañuelos

México D.F., Abril 2016



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

Ciudad De México Lunes 18 de Abril 2016.

El lector designado por la división de Ciencias Biológicas y de la salud Unidad Iztapalapa Aprobó la Tesis De Especialidad.

Que presento:

I.A Aída Guadalupe Pérez Vilchis.

Comité Tutorial

Dr. Marco Antonio Gerardo Ramírez Romero

Dr. Sara Hiram Morán Bañuelos

Lector: Dr. Héctor Escalona Buendía

AGRADECIMIENTOS

A mis Padres Por su apoyo incondicional siempre.

A Mi Hermana Maritza por siempre estar y se uno de mis soportes

A mi Hermano Diego, y Cuñada Gema

A mis Sobrinos Diego y Rodrigo

A Rafa por acompañarme siempre

A Ricardo por Iluminarme, y por su amor incondicional.

A mis Asesores por darme la oportunidad de poder colaborar en este proyecto

Dr. Gerardo Ramírez Romero

Dra. Hiram Moran Bañuelos

A mi Lector Por su valioso tiempo y por sus acertados comentarios.

Dr. Héctor Escalona Buendía.

Tabla de contenido

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
II. ANTECEDENTES	9
2.1.2 Compuestos Fenólicos	9
2.1.3 Antocianinas	10
2.2 Maíz Pigmentado	11
2.3 Amaranto	12
2.4 Probióticos	15
2.5 Nixtamalización	17
III. JUSTIFICACIÓN	18
IV. HIPÓTESIS	20
V. OBJETIVO GENERAL	20
5.1 Objetivos Particulares	21
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	21
1) Preparación del inóculo.	22
2) Nixtamalización de granos de maíz pigmentado.	23
3) Fermentación de la masa.	23
4) Obtención de pulpa de fruta.	24
5) Formulación del alimento funcional	25
Determinación de proteína	26
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
7.1 condiciones de la nixtamalización del Amaranto	26
7.2 Medio de cultivo	30
7.3 Condiciones de la masa.	31

7.4 Condiciones de fermentación.	33
7.5 Análisis bromatológico del dulce.	36
VIII. CONCLUSIONES	38
IX. BIBLIOGRAFÍA	39

Índice de Graficas

Gráfica 1. Viabilidad L. casei Shirota en amaranto nixtamalizado.....	28
Gráfica 2. Viabilidad de L. rhamnosus GG en maíz/amaranto.....	28
Gráfica 3. Viabilidad de L. rhamnosus GG en Masa de maíz/amaranto sin nixtamalizar.....	29
Gráfica 4. Viabilidad de L. casei Shirota en masa maíz/amaranto sin nixtamalizar.....	30
Gráfica 5. Actividad de agua en 4 diferentes ensayos.....	32
Gráfica 6. Medición de pH diferentes tratamientos.....	33
Gráfica 7. Viabilidad de Lactobacilos 0 Horas.....	34
Gráfica 8. Viabilidad de lactobacilos 24 Horas.....	34
Gráfica 9. Viabilidad de L. casei Shirota en dulce de guayaba y fresa.....	36
Gráfica 10. Contenido de Proteína En dos diferentes ensayos.....	37

Índice de Figuras

Figura 1. Mazorcas de Maíz de diferentes Colores.....	12
Figura 2 Masa Inoculada y Siembra en Placa en Agar MRS.....	31
Figura 3 Dulce Funcional con Masa de Maíz/amaranto fermentado con lactobacilos saborizado con pulpa de fresa (A) y Pulpa de Guayaba (B) Endulzado con Stevia.....	35

Índice de Tablas

Tabla 1 Análisis Bromatológico del Grano de Amaranto y Otros Cereales.....	15
Tabla 2 % De Contenido de Cal y % De Humedad.....	27

RESUMEN

La población mexicana está padeciendo problemas graves de salud como consecuencia de la dieta alta en azúcares y grasas, por ello las personas se están preocupando por su dieta diaria. Por esto la industria alimentaria debe elaborar productos funcionales, que además de nutrir ofrezcan beneficios. El maíz azul posee compuestos antioxidantes que pueden ayudar a prevenir enfermedades y algunos lactobacilos tienen función probiótica y ayudan al sistema digestivo, por eso en la Universidad Autónoma Metropolitana se elaboró un alimento funcional a base de masa de maíz azul fermentada con *Lactobacillus casei* Shirota y *L. rhamnosus* GG, saborizado con pulpa de fruta natural. El proyecto tuvo como objetivo la adición de harina de amaranto al alimento descrito, ya que es un pseudo cereal que tienen un alto contenido proteico, se ha demostrado que la combinación de harina de maíz con harina de amaranto complementa los aminoácidos necesarios. El amaranto se integró durante la nixtamalización, del maíz la fermentación y finalmente en la formulación del producto final. En tres diferentes etapas Los resultados indicaron que la mejor opción para integrar el amaranto sin nixtamalizar en forma de harina. Fue al momento de la fermentación, con esto se obtuvieron 10^8 UFC a las 24 horas de elaboración, superior a lo que se registró en trabajos anteriores y se alcanzaron 11 % de proteína en el alimento final. Se puede concluir que es posible integrar maíz y amaranto y generar un alimento nutracéutico y probiótico.

ABSTRACT

The Mexican population is suffering serious health problems due to diet high in sugar and fat, so people are worried about their daily diet. Thus the food industry should develop functional products that offer benefits in addition to nourish. Blue corn has antioxidant compounds that may help prevent disease and some Lactobacilli are probiotic and help maintain the digestive system, so in the Autonomous Metropolitan University a functional food was prepared using fermented dough from blue corn and *Lactobacillus casei* Shirota and *L. rhamnosus* GG, also flavored with natural fruit pulp. This project aimed at adding amaranth flour to the food, because this is a high protein. It has been shown that the combination of corn flour with amaranth flour offers all amino acids needed. Amaranth was added during nixtamalization, during fermentation and finally in the final product formulation. The results indicated that the best option for integrating amaranth was at the time of fermentation, with this were obtained 10^8 CFUs at 24 hours of development, higher than what was recorded in previous works and 11% protein were achieved in the food. It can be concluded that it is possible to integrate corn and amaranth and generate a probiotic and nutraceutical food.

I. INTRODUCCIÓN

La nutrición es el estudio científico de los alimentos y de cómo éstos mantienen el cuerpo e influyen en nuestra salud. También se encarga de cómo consumimos, digerimos, metabolizamos y almacenamos los nutrientes, implica el estudio de los factores que influyen en nuestros patrones de alimentación, haciendo recomendaciones acerca de la cantidad que deberíamos comer de cada tipo de alimentos.

Aunque son tres los macronutrientes (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) que necesitamos para vivir, también se han identificado compuestos químicos en las materias primas con que se elaboran los alimentos que pueden ayudar a prevenir o tratar enfermedades, esos componentes reciben el nombre de nutraceuticos y los alimentos que se elaboran con esas materias primas se dice que son alimentos funcionales.

Entre las materias primas que hay en México se encuentra el maíz azul y el amaranto, estos tienen compuestos nutraceuticos, y son alimentos nutritivos que pueden usarse para elaborar productos funcionales.

II. ANTECEDENTES

2.1 Compuestos Bioactivos

2.1.1 Antioxidantes

Son sustancias sintéticas o naturales que previenen la oxidación o inhiben reacciones promovidas por oxígeno y peróxidos. Muchas de estas sustancias son utilizadas como conservadores de varios productos para evitar su deterioro. Los antioxidantes son fuertes agentes reductores debido a las propiedades de óxido reducción de sus grupos hidroxilo y las relaciones estructurales entre diferentes partes de su estructura química. Ejercen sus propiedades protectoras previniendo la producción de radicales libres o neutralizando los producidos en el cuerpo. Por definición la actividad antioxidante es la capacidad de un compuesto de inhibir la degradación oxidativa, en general, la actividad antioxidante aumenta cuando existen grupos hidroxilo o grupos donadores de hidrógeno en la estructura molecular del compuesto, los principales compuestos que tienen actividad antioxidante son: carotenoides, fosfolípidos, tocoferoles (vitamina E), vitamina C, compuestos fenólicos, flavonoides, pigmentos, algunos aminoácidos (Fukumoto y Mazza, 2000).

2.1.2 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos o fenoles son sustancias orgánicas que poseen un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilo. Los cuales agrupan un amplio intervalo de sustancias que difieren en el número de átomos de carbono, que las constituyen en conjunto con el esqueleto fenólico básico, además del número y

posición de los sustituyentes hidroxilo. Pueden ocurrir en la naturaleza en forma conjugada soluble o en formas insolubles, enlazados covalentemente a azúcares o componentes de la pared celular (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Los fenoles se consideran antioxidantes fuertes y secuestradores de radicales libres que inhiben la oxidación de lípidos, por eso han sido ampliamente estudiados y se han desarrollado diferentes técnicas para cuantificarlos. Se ha detectado también que se encuentran en la mayoría de los vegetales que consumimos. En las frutas y vegetales predominan las formas conjugadas solubles, mientras que en los cereales se encuentran en formas insolubles, aproximadamente el 85% (Miller *et al.*, 2000; Adom y Liu, 2002).

2.1.3 Antocianinas

Representan los principales pigmentos solubles en agua que son visibles al ojo humano, junto con los carotenoides, son los colorantes más utilizados para alimentos. Aunque se pueden encontrar en cualquier parte de la planta, son mucho más evidentes en frutos y flores, donde contribuyen a dar coloraciones rojos, azules y morados. Las antocianinas tienen gran aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica y de cosméticos (Clifford, 2000; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Estos compuestos pertenecen al grupo de los flavonoides, y su estructura primaria es un núcleo de flavilio, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos. Son solubles en agua y menos estables que los carotenoides. Una propiedad importante es que presentan actividad antioxidante,

pueden prevenir el daño cardiovascular y neuronal, algunos tipos de cáncer y diabetes (Konczak y Zhang, 2004).

2.2 Maíz Pigmentado

México se considera uno de los principales lugares de origen del maíz (*Zea mays* L.) por lo que la diversidad genética de esta especie en el país es muy amplia, existiendo más de 60 razas que difieren en tamaño de la planta, forma y color de las mazorcas y de los granos. El maíz es el cereal básico de la dieta de la población en México, siendo empleado para la elaboración de diversos platillos como: tortilla, tamales, atole, pan y otros alimentos tradicionales de México. Entre esos alimentos se encuentran las bebidas de maíz no fermentadas y las fermentadas que preparan las comunidades indígenas en diferentes zonas del país y que lo han hecho desde hace cientos de años, como es el pozol, tesguino, tejate y diversos atoles (Carrera *et al.*, 2015)

Formando parte de esta diversidad se encuentran los maíces de grano pigmentado con colores que van del negro hasta el rojo (Figura 1). El color se debe a la presencia de las antocianinas, que son compuestos tipo flavonoide caracterizados por sus brillantes colores y sus propiedades nutraceuticas, entre las cuales destacan su actividad antioxidante y antiinflamatoria (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006).



Figura 1. Mazorcas de Maíz de diferentes Colores

2.3 Amaranto

El amaranto representa una fuente rica en proteína, fibra y ácidos grasos por lo que su inclusión en la dieta representa un aumento en la ingesta de macronutrientes para la población de todas las edades e incluso recomendado para aquellas con padecimientos como la intolerancia al gluten (Calderón de la Barca *et al.*, 2013).

La oferta de productos a base de amaranto es limitada, se reduce a la preparación de variantes del dulce tradicional denominado “alegría”, para el cual se utiliza la semilla reventada y aglutinada con diversas mezclas de azúcar, miel, piloncillo, coberturas tipo chocolate blanco, oscuro y semi-amargo y como ingrediente adicional en diversos productos en forma de harina, la mayoría de estos se ofrecen en la tradicional “Feria

de la alegría y el olivo” en Tulyehualco, uno de los pueblos originarios del Distrito Federal (Morán-Bañuelos *et al.*, 2012). A pesar de la diversificación de productos, éstos no aprovechan adecuadamente su aporte nutricional e incluso su formulación es similar a la de los alimentos conocidos como “chatarra”, aunque también se han desarrollado otras formulaciones que integran el amaranto a materias primas de alto valor nutricional, como el maíz y amaranto (Ramírez-Romero *et al.*, 2013)

Los transformadores y comercializadores utilizan semilla que proviene de un número limitado de variedades de amaranto, solo ocho cultivares están registrados en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales en comparación con 1046 de maíz, 11 de trigo y 20 de avena. Dichos materiales no han sido caracterizados en cuanto a sus contenidos de compuestos nutritivos y capacidad antioxidante, los estudios al respecto son dispersos y las muestras analizadas no representan la amplia diversidad que existe del cultivo a lo largo del territorio nacional (López-Mejía *et al.*, 2014). Al ser el amaranto un cultivo nativo de Mesoamérica y con centro de diversificación en nuestro país es probable que existan formas vegetales con contenidos sobresalientes en los compuestos de interés para la industria alimentaria, ya que en lugares como la zona agrícola del Distrito Federal y Valles Altos Centrales de México se ha observado una amplia diversidad biológica del género (Morán-Bañuelos y Soriano-Robles, 2014).

Las especies del género *Amaranthus* L. (familia Amaranthaceae o Amarantáceas) están ampliamente distribuidas en el mundo, en particular en las regiones tropicales, subtropicales y de clima templado (Khaing *et al.*, 2013).

Esta familia comprende más de 60 géneros y cerca de 800 especies de plantas herbáceas anuales o perennes. Su grano y sus hojas poseen valiosos componentes, por lo que se le considera un alimento con un gran aporte nutricional. Se sabe que desde la prehistoria de las hojas amaranto- mucho antes de su domesticación- se consumieron como verdura en América y otras partes del mundo, como lo demuestran las excavaciones arqueológicas. Los estudios históricos señalan que en muchas zonas tropicales y subtropicales el amaranto fue una planta importante de recolección, sobre todo por sus hojas.

El grano de amaranto tiene un alto contenido de proteína, que varía en un rango de 12.5% a 17.9%(Tabla 1) Posee una óptima composición de aminoácidos que sumado a la alta digestibilidad de su proteína, la convierten en apta para los requerimientos humanos. El Amaranto tiene un alto nivel de lisina, el cual se encuentra limitado en muchos cereales, como el Maíz, Sorgo y Trigo. Por esta razón, el grano de amaranto es un excelente complemento para los cereales (Cuadro 1). Una combinación de Arroz y amaranto en una razón de 1:1 ha sido reportada como muy cercana a las especificaciones dadas por la FAO / OPS. (Bressani, 1991).

Compuesto	Amaranto	Maíz	Arroz	Trigo
Humedad	11.1	13.8	11.7	12.5
Proteína	17.9	10.3	8.5	14.0
Carbohidratos	57.0	67.7	75.4	66.9
Aceites/Grasas	7.7	4.5	2.1	2.1
Fibra	2.2	2.3	0.9	2.6
Cenizas	4.1	1.4	1.4	1.9

Tabla 1 Análisis Bromatológico del Grano de Amaranto y Otros Cereales

2.4 Probióticos

Hace un siglo, Elie Metchnikoff (científico ruso, premio Nobel, y profesor del Instituto Pasteur en París) postuló que las bacterias ácido lácticas (BAL) ofrecían beneficios a la salud y que esto llevaban a la longevidad. Sugirió que la “autointoxicación intestinal” y el envejecimiento resultante podrían suprimirse modificando la microbiota intestinal y utilizando microbios útiles para sustituir a los microbios proteolíticos como Clostridium — productores de sustancias tóxicas que surgen de la digestión de proteínas, entre las que se encuentran fenoles, índoles, y amoníaco —. Desarrolló entonces una dieta con leche fermentada por la bacteria, a la que denominó “bacilo búlgaro.” (WGO, 2008).

El término “probiótico” fue introducido por primera vez en 1965 por Lilly y Stillwell; a diferencia de los antibióticos, se definió al probiótico como aquel factor de origen microbiológico que estimula el crecimiento de otros organismos. En 1989, Roy Fuller enfatizó el requisito de viabilidad para los probióticos e introdujo la idea de que tienen un efecto beneficioso para el huésped.

Se encuentra ampliamente documentada la evidencia terapéutica del uso de los lactobacilos: *L. casei* y *L. rhamnosus* y su efecto antimicrobiano, así como su acción como coadyuvantes en algunas enfermedades gastrointestinales, ambos son probióticos del tipo de las bacterias productoras de ácido láctico (BAL), son una clase funcional de bacterias fermentadoras no patógenas, no toxigénicas, Gram positivas, caracterizadas por producir ácido láctico a partir de carbohidratos, lo que las hace útiles para la fermentación de alimentos. En este grupo se incluyen también las especies de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, y *Streptococcus thermophilus*. Dado que el género *Bifidobacterium* no produce la fermentación de alimentos y es taxonómicamente diferente de las otras BAL, habitualmente no se lo agrupa entre las BAL. Muchos probióticos también son BAL, pero algunos probióticos (tales como ciertas cepas de *E. coli*, formadoras de esporas, y levaduras usadas como probióticos) no lo son (Burgain *et al.*, 2014).

Existen en el mercado diferentes cepas bacterianas bien caracterizadas y que han demostrado sus efectos benéficos, de ellos los más importantes son los del género *Lactobacillus*, que son capaces de competir con bacterias patógenas y hacer que

disminuya la cantidad de ellas en el tracto digestivo, también pueden prevenir la formación de úlceras gástricas, la inflamación y la constipación del tracto intestinal.

Actualmente el uso de estos microorganismos en formulaciones de alimentos es común pero sólo se ofrecen en un número limitado de presentaciones, predominantemente en productos bebibles, semisólidos o harinas.

2.5 Nixtamalización

La masa de maíz nixtamalizado es utilizada para producir tortillas, las cuales son la principal fuente de calorías, proteínas y calcio para la población de bajos recursos económicos en México; Los cambios físicos y químicos que se presentan en la masa durante el proceso de nixtamalización son: hinchamiento y ruptura de los gránulos de almidón, pérdida de cristalinidad y retrogradación. (Ramírez *et al.*, 2009)

La nixtamalización es el proceso en el que el grano de maíz se cuece en una solución alcalina, normalmente se utiliza hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ o “cal” al 1% y agua a 90°C. Una vez que se mezclan el maíz, la cal y el agua, se tiene un periodo de reposo de entre 12 y 24 horas. Durante el reposo, el grano de maíz se hidrata y se suaviza el pericarpio. Al mismo tiempo, se controla la actividad microbiana al tener un valor de pH entre 10.5-11.6, se desnaturalizan las proteínas y el almidón se gelatiniza parcialmente (Ramírez *et al.*, 2009).

Durante el proceso de nixtamalización, parte de la cal se absorbe sobre todo en el germen del grano y éste se hincha debido al efecto combinado de la gelatinización del

almidón, la degradación parcial de la estructura del endospermo y la solubilización parcial de la pared celular y de la matriz proteica. Cuando el grano nixtamalizado es lavado, se logra la remoción del pericarpio, así como la eliminación del exceso de cal y de partes externas del grano como germen, parte de endospermo y pedicelo.

Este método, también llamado método alcalino de cocción, es el proceso mediante el cual el grano de maíz es hervido con cal para ser cocinado. El porcentaje de cal varía entre 1% y 1.5 del peso del grano; y el tiempo de cocción de 15 minutos. Reposo de 24 horas

Durante este proceso se produce un desprendimiento de la cáscara del grano, parte de la capa aleurónica y parte del germen. Las otras pérdidas son químicas, como por ejemplo, vitaminas del complejo B.

Dentro de los principales beneficios enunciados en las referencias se puede citar que ofrece una mayor disponibilidad de los aminoácidos esenciales, la destrucción de las aflatoxinas, una mayor disponibilidad del calcio y aumenta la biodisponibilidad de las vitaminas.

III. JUSTIFICACIÓN

En años recientes se ha convertido en un aspecto preocupante el hecho de que en nuestro país aproximadamente el 70% de los mexicanos padece sobrepeso y casi una tercera parte sufre de obesidad, esto también se ve reflejado en los jóvenes y niños. Esta epidemia ha provocado un incremento en padecimientos cardiovasculares y

diabetes. Una de las causas es el cambio de hábitos alimenticios, predominando el consumo de alimentos con alto contenido calórico y grasas saturadas, pero deficientes en aporte nutricional.

Por ese motivo se considera necesaria la generación de alimentos que ofrezcan los nutrientes básicos y además contengan cualidades adicionales. Este tipo de alimentos son considerados alimentos funcionales y es posible elaborarlos con materias primas como el maíz de color, que además de carbohidratos aporta antocianinas, que son compuestos antioxidantes. También el amaranto ofrece un elevado contenido de proteínas y propiedades funcionales. Por otro lado, en muchos estudios se reporta la función probiótica de los lactobacilos y el beneficio en el sistema digestivo al consumirlos de manera frecuente.

En la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa ya se han realizado diversas formulaciones utilizando las materias primas mencionadas y han reportado que es posible generar un alimento que combine los beneficios del maíz y los probióticos, esto suena extraño ya que los dulces parecen estar vedados, sin embargo, este dulce es un alimento nutritivo, pues contiene nutraceuticos derivados del maíz usado (azul), este maíz se sometió a un proceso de nixtamalización y posteriormente se fermentó con microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* Shirota) teniendo con esto un dulce con nutraceuticos y probióticos que además se endulzó con stevia y se saborizó con pulpa de fruta

Como se podrá ver el dulce es más que una golosina, es un alimento, sin embargo le hacen falta proteínas y es donde este trabajo cobra importancia, la propuesta aquí

presentada tiene que ver con encontrar cual es la mejor forma de adicionarle proteínas a este dulce, conserve las dos características antes mencionadas y además que tenga sabor agradable., y con este trabajo se buscó aumentar la cantidad de proteína de ese alimento.

Los estudios del potencial nutricional del amaranto son aislados y no hay un uso integral. No hay una campaña de difusión de los beneficios y no se ha diseñado una política pública que promueva su consumo, ante ello se busca aprovechar su alto contenido de proteínas para integrarlo a un alimento funcional.

IV. HIPÓTESIS

Al adicionar proteína de amaranto a un alimento funcional que contiene nutraceuticos y probióticos se incrementará el contenido de lactobacilos y su valor nutritivo.

V. OBJETIVO GENERAL

Integrar amaranto a un alimento funcional para lograr una mayor población de sus microorganismos probióticos y que estén viables a lo largo de la vida de anaquel del alimento.

5.1 Objetivos Particulares

- Establecer condiciones óptimas para la nixtamalización de amaranto
- Establecer la proporción idónea de amaranto: maíz en la formulación del alimento.
- Verificar la viabilidad de los organismos probióticos
- Determinar las condiciones que favorecen el crecimiento de los lactobacilos hasta Por 60 horas.
- Establecer condiciones para poder cambiar el medio de cultivo MRS por Suero de Leche.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del alimento se consideró el protocolo que establecido por Jiménez (2014) y se hicieron algunas modificaciones para integrar el amaranto en algunas de las etapas que se describen a continuación:

1. Preparación del inóculo
2. Nixtamalización de granos de maíz pigmentado

3. Fermentación de la masa
4. Obtención de pulpa de fruta endulzada
5. Formulación del producto.

- 1) Preparación del inóculo.

Los microorganismos probióticos *Lactobacillus casei* Shirota y *Lactobacillus rhamnosus* GG fueron proporcionados por la Planta Piloto 2, ubicada en la UAM-Iztapalapa. Para promover el crecimiento de los lactobacilos se utilizó Caldo MRS y para cuantificar la viabilidad de los lactobacilos se utilizó el método de cuenta en placa, que es un medio específico que permite el óptimo crecimiento de las bacterias lácticas. Se preparó una suspensión agregando a agua estéril; suero de leche en una proporción de 0.5% (p/v) y almidón soluble en una proporción de 0.5% (p/v), esta mezcla se pasteurizó con vapor a una temperatura de 80°C durante 10 min, posteriormente la suspensión se enfrió en un baño de agua a una temperatura de 4°C, del stock de *L. casei* Shirota se agregó 2% (v/v) en la suspensión preparada y se incubó por 24 horas 37°C y con una agitación de 300 RPM alcanzando una concentración de 10⁷ UFC/mL. El almidón soluble tiene la función de servir como medio de adaptación de los lactobacilos antes de ser inoculados en la masa estéril, se utilizó la siguiente Proporción por cada 100 mL de caldo MRS Se usó una relación de 1 g de almidón soluble disuelto en agua a temperatura ambiente Se incubo a 37°C por 48 horas para permitir que se obtenga un concentrado celular en cantidades adecuadas para su uso en la fermentación.

2) Nixtamalización de granos de maíz pigmentado.

Se obtuvieron granos de maíz azul (*Zea mays* L.) de la comunidad productora de la Delegación Tláhuac del Distrito Federal, los granos se limpiaron y se colocaron en un recipiente que contenía agua en proporción 2:1 (agua-maíz) y con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (cal grado alimenticio) en una relación 1% p/p con respecto a la cantidad de maíz. Realizando de esta manera una nixtamalización parcial. La mezcla se calentó hasta alcanzar los 90°C y se mantuvo en agitación y a temperatura constante durante 15 min, al final se coló y enjuagó el maíz con agua potable. Los granos se dejaron escurrir, se secaron y molieron para obtener una harina.

De igual manera, las semillas de amaranto se limpiaron para eliminar impurezas y se pulverizaron. El amaranto se molió y la harina obtenida pasó a través de un tamiz # 60 obteniendo un tamaño de partícula de $250\mu\text{m}$ y con una humedad del 9%, esa harina se mezcló con la harina de maíz antes de que se inoculara con los lactobacilos y después se llevara a cabo la fermentación.

3) Fermentación de la masa.

Para la fermentación se utilizaron dos tipos de harina una que contenía sólo maíz azul nixtamalizado y otra que era una mezcla de maíz y amaranto. La mezcla de harina de amaranto y harina de maíz está compuesta por 6% de harina de amaranto y 24% de harina de maíz nixtamalizado inicialmente se usó 45 ml de agua por cada 10g de masa. La mezcla de harinas se colocó en un matraz con agua potable

en una proporción 2:1 (agua-harina) y se esterilizó durante 10 min a 15 lb, la masa formada se inoculó con el concentrado celular de bacterias ácido lácticas, se mantuvo en incubación durante 60 horas y al final de este periodo se realizó una cuenta en placa para verificar la presencia de los lactobacilos y reportar las unidades formadoras de colonia (UFC), se determinó también la actividad de agua utilizando el equipo Water Activity Meter 4TE (AQUA LAB) y se determinó el pH en masa utilizando un potenciómetro Star 3 (THERMO ORION) tomando 1gr de masa nixtamalizada en 10 ml de agua purificada.

4) Obtención de pulpa de fruta.

Se utilizó guayaba y fresa respectivamente eliminando aquella que estaba sobre madura, con daño físico o contaminación biológica como manchas lamosas, blancas, negras, verdes o cafés, se lavó con agua y desinfectante, la fruta escurrida se troceó y se colocó en un recipiente y calentó a temperatura de 90°C y se mantuvo en agitación hasta obtener una consistencia espesa, se le agregó stevia en una relación de 2:1 (pulpa: edulcorante) se llegó a 44 grados Brix, la pulpa obtenida se filtró utilizando un colador para eliminar las semillas y obtener una masa homogénea, se dejó enfriar hasta llegar a temperatura ambiente.

5) Formulación del alimento funcional

Después se realizó un estudio paralelo para evaluar la aceptación del dulce en niños y a partir de los resultados obtenidos se vio que a los niños no les gustaba la consistencia de la masa ya que tenía una consistencia tipo atole y por ese motivo se disminuyó un porción de agua de la formulación original por cada 30g de masa estéril se agregaban 135 ml de agua. quedando la formulación de la siguiente manera por cada 30 gr de masa estéril se utilizaron 80 ml de agua.

Para obtener la consistencia y sabor del producto final que resulto aceptable por los consumidores, se mezclaron en proporción 1:1 la masa fermentada con bacterias ácido láctico y la pulpa de fruta endulzada con glucósidos de esteviol. El producto se envasó al vacío en bolsas rectangulares de 50 gramos y se almacenó en refrigeración a 4°C

Se preparó también una formulación de alimento funcional que consistió en agregar 6% de harina de amaranto obtenida previamente a la masa de harina de maíz pigmentado fermentado y mezclado con pulpa de guayaba y fresa respectivamente

Se determinó en contenido de proteína por el método de Kjeldahl:

Determinación de proteína

$$\% \text{Proteína} = \frac{(\text{Normalidad HCl})(\text{ml HCl corregido})(14 \text{ g Nitrógeno})}{\text{g muestra}} \times 100 \times \text{Factor de conversión}$$

ml HCl corregido = ml de ácido gastados en la muestra - ml de ácido gastados en el blanco

Donde ml HCl Corregido = ml ácido gastados en la muestra - ml de ácido gastados en el blanco

Normalidad HCl 0.0016

Peso nitrógeno = 14 g

Factor de conversión = 6.25

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 condiciones de la nixtamalización del Amaranto

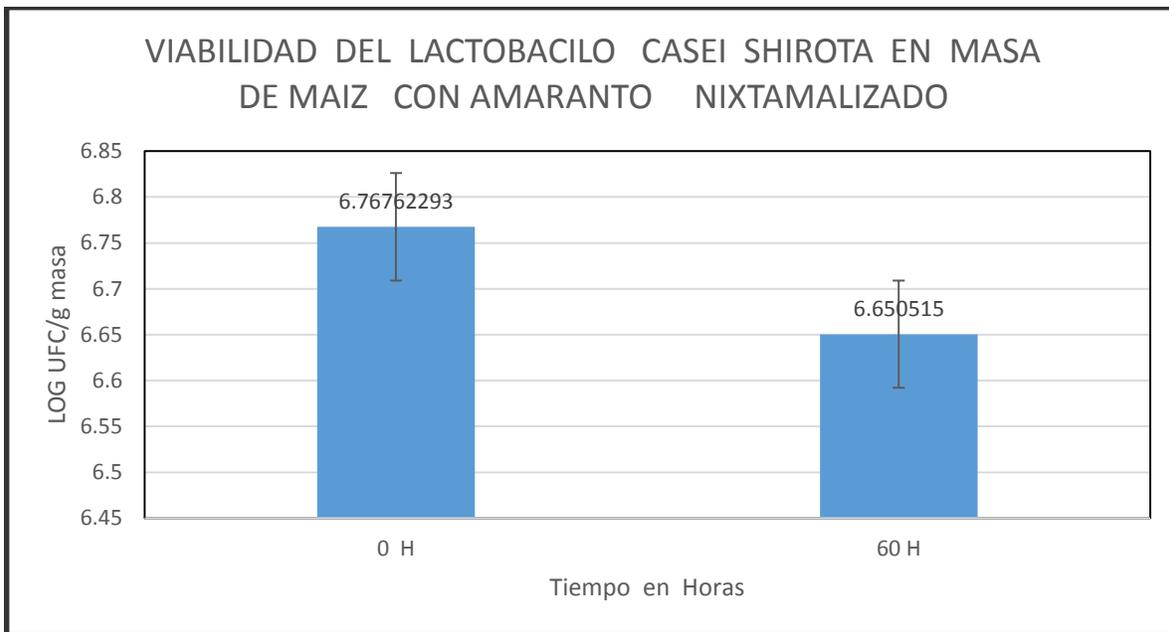
Una parte importante del proyecto era poder establecer condiciones óptimas para la nixtamalización del amaranto. Se realizaron diferentes concentraciones de cal para la nixtamalización del amaranto y se concluyó que la menor concentración de cal en el amaranto era la idónea. Para la nixtamalización. La elección de la menor concentración de cal en la nixtamalización del grano de amaranto se realizó

una pequeña prueba sensorial a nivel laboratorio y se obtuvo lo siguiente (tabla 2)

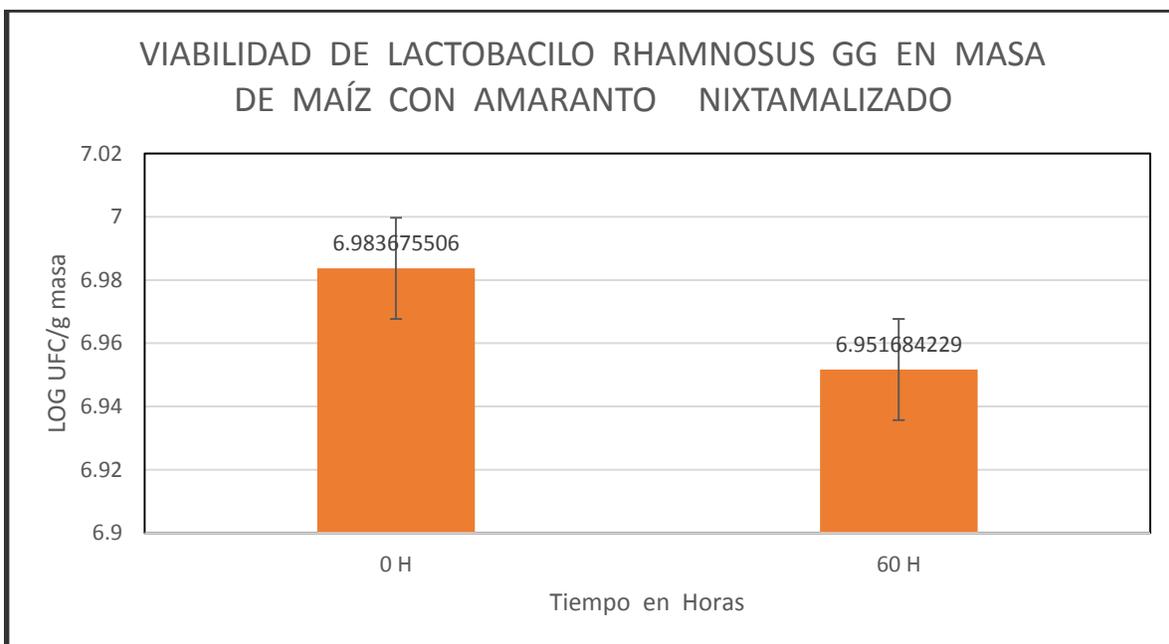
% de cal	% de Humedad
0.8	65.5
1	64.8
1.5	61.9
2.0	79.8
2.5	63.0
3.0	61.4

Tabla 2 % De Contenido de Cal y % De Humedad

Al hacer los experimentos conjuntando Masa maíz azul nixtamalizado y amaranto nixtamalizado y lactobacilos se pudo observar que la viabilidad de los lactobacilos. No era la esperada. (Grafica 1 y 2)

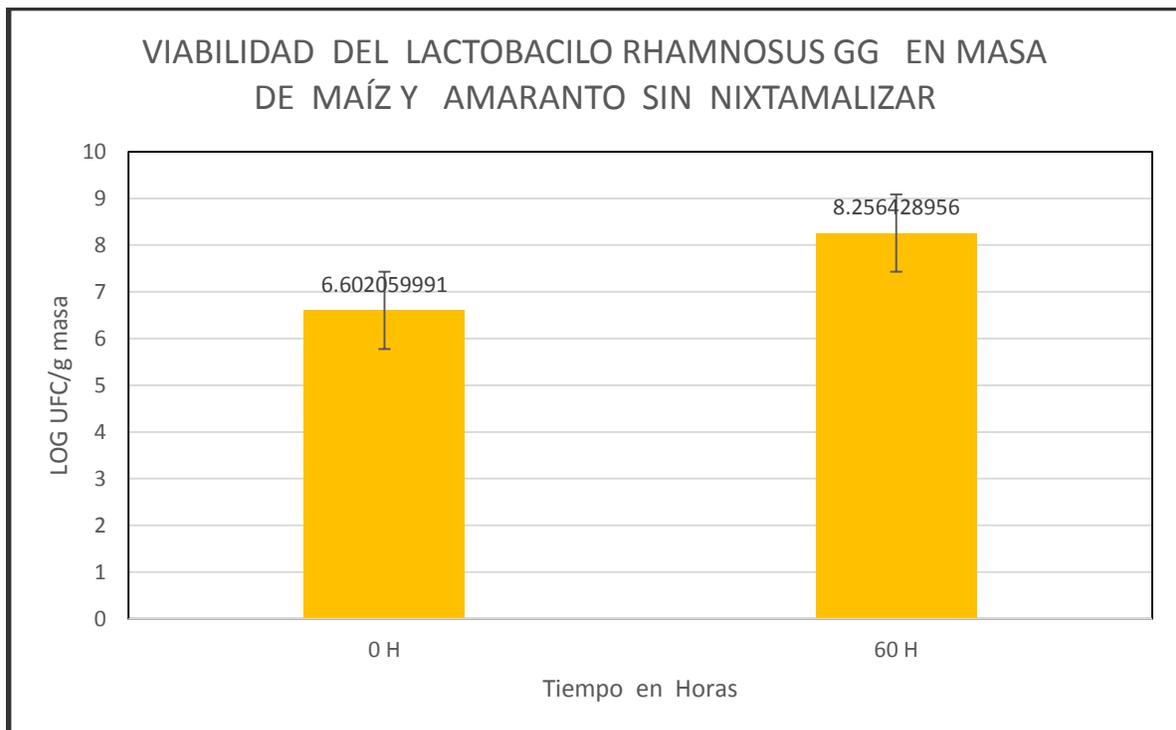


Gráfica 1. Viabilidad *L. casei* Shirota en amaranto nixtamalizado

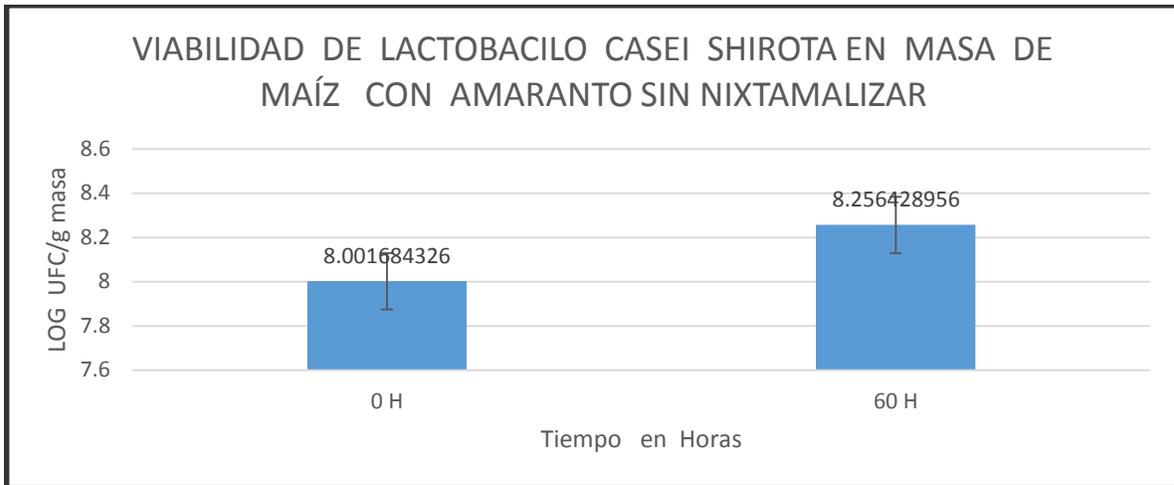


Gráfica 2. Viabilidad de *L. rhamnosus* GG en maíz/amaranto

Se volvió a realizar el mismo experimento pero sin nixtamalizar el grano de amaranto se pudo observar lo siguiente: que al solo someter a un proceso alcalino al maíz. Y moler el grano de amaranto para formar una harina la viabilidad de los lactobacilos se comportaba de mejor manera y así podíamos mantener los rangos de viabilidad del orden de $\text{Log } 10^8 \text{ UFC /g Masa}$. De esta manera se pudo descartar la nixtamalización del grano de amaranto en la formulación del dulce. Ya que comprometía la viabilidad de los lactobacilos. (Grafica 3 y 4)



Gráfica 3. Viabilidad de *L. rhamnosus GG* en Masa de maíz/amaranto sin nixtamalizar



Gráfica 4. Viabilidad de *L. casei Shiota* en masa maíz/amaranto sin nixtamlizar

7.2 Medio de cultivo

De los resultados obtenidos podemos decir que inicialmente la manera de lograr el crecimiento de los lactobacilos era usando el Caldo MRS, haciendo los cambios de medio durante tres días consecutivos y agregando en el último día una mezcla de caldo MSR y almidón soluble. Esta adición tuvo la función de servir como un medio de adaptación del lactobacilo antes de inocular la masa con los mismos (Figura 2).

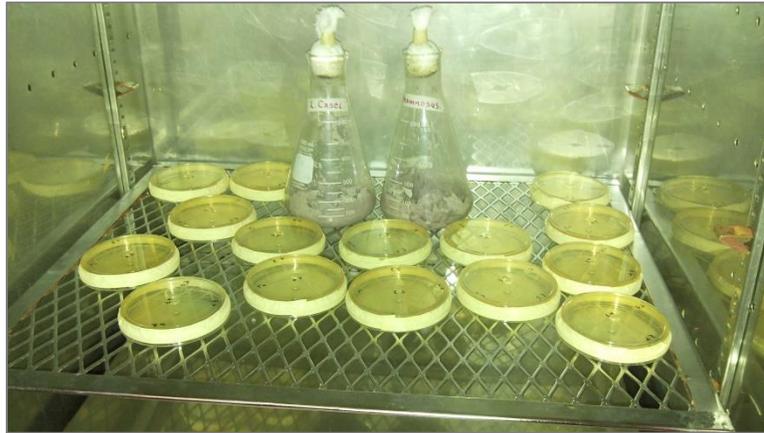
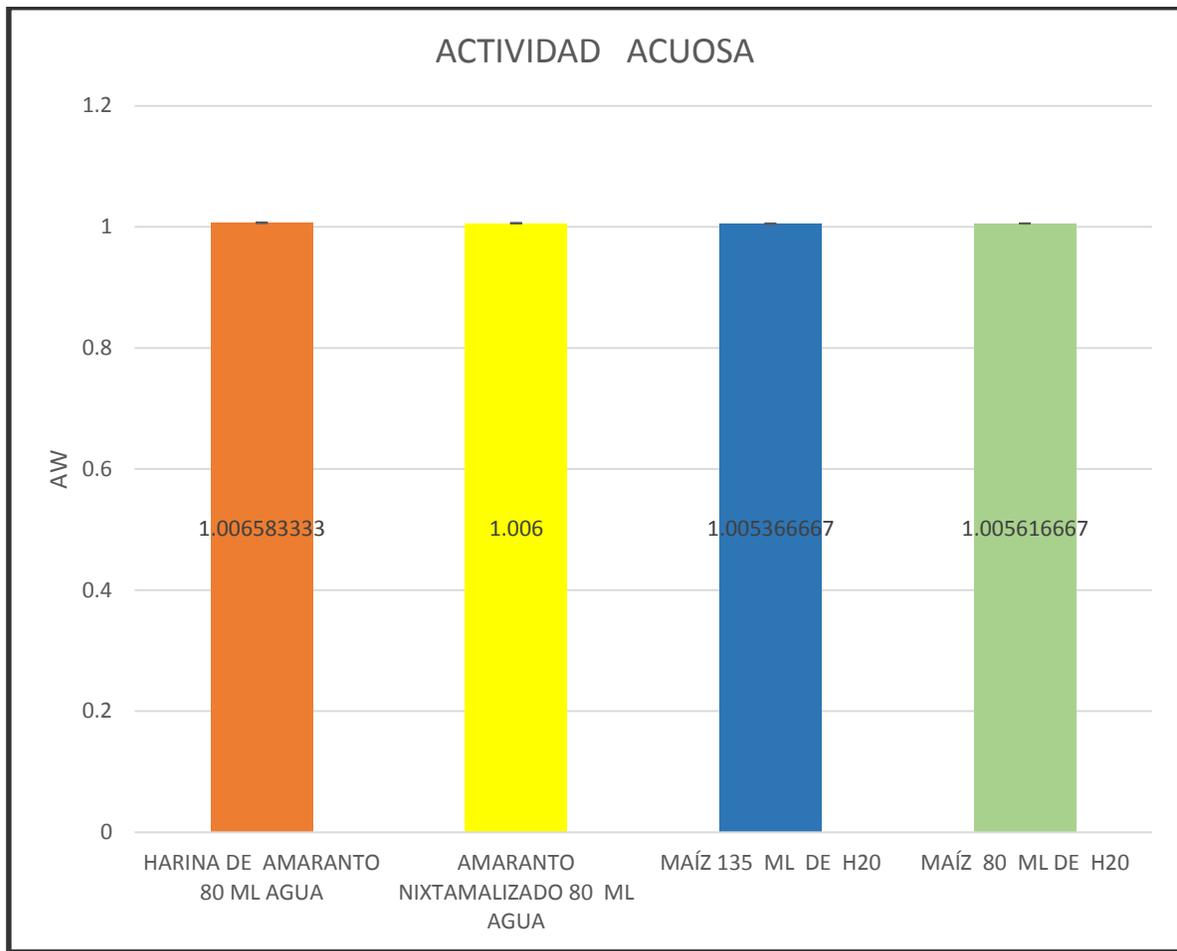


Figura 2 Masa Inoculada y Siembra en Placa en Agar

MRS

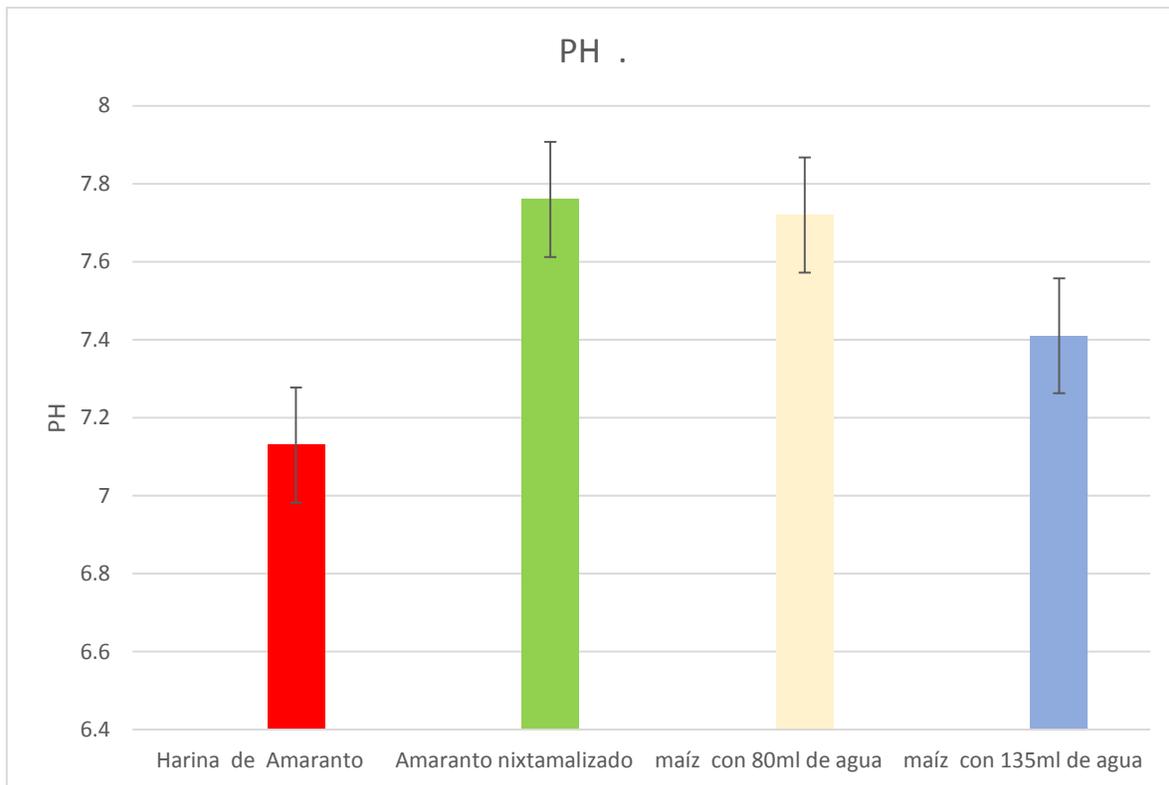
7.3 Condiciones de la masa.

Al verificar la viabilidad de los lactobacilos se observó que ya no había crecimiento de los lactobacilos después de las 60 horas, por lo que había variables que podían estar afectando su crecimiento durante la fermentación. Ante ello, se decidió medir los siguientes parámetros en la masa estéril: actividad de agua (Grafica 5) y pH (grafica 6). Después de observar que los parámetros evaluados no afectaban con el crecimiento de los lactobacilos.



Gráfica 5. Actividad de agua en 4 diferentes ensayos

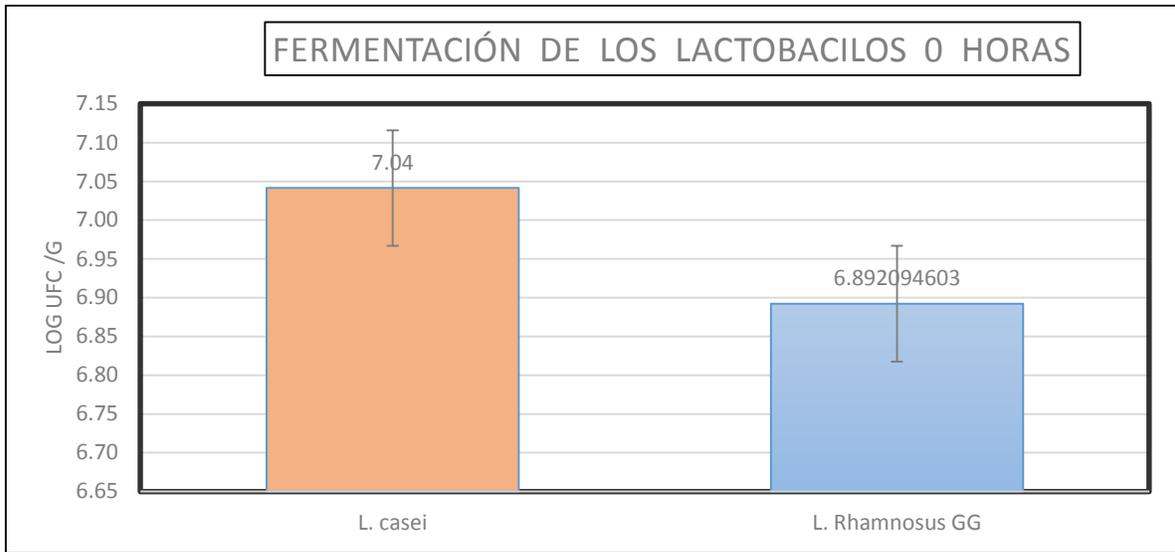
Los parámetros evaluados fueron los siguientes pH (Gráfica 6) No se encontró ninguna variación importante en los parámetros medidos. En la medición de pH es de esperarse que los tratamientos con maíz y amaranto nixtamalizado se encuentran ligeramente más alcalinos.



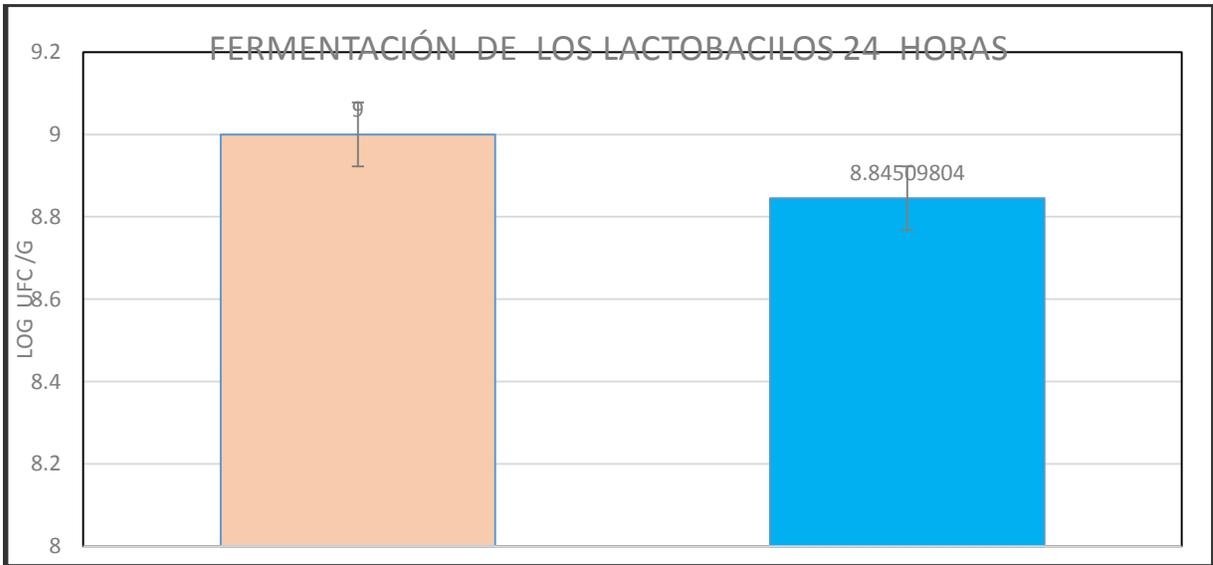
Gráfica 6. Medición de pH diferentes tratamientos

7.4 Condiciones de fermentación.

Con el fin de reducir tiempos en la fermentación y promover el crecimiento de los lactobacilos se sustituyó el caldo MRS por suero de leche, después de este cambio se inoculó la masa estéril, se mantuvo en incubación y al evaluar la viabilidad de los lactobacilos a las 0 y 24 horas se pudo observar que a las 0 horas se cuantificaron 10^6 UFC. Así mismo se verificó la viabilidad de los lactobacilos y se pudo observar que su presencia aumentaba con el transcurso de las horas (Gráfica 7 y 8) cabe mencionar que la Harina de amaranto que se adicionó no estaba nixtamalizada.



Gráfica 7. Viabilidad de Lactobacilos 0 Horas



Gráfica 8. Viabilidad de lactobacilos 24 Horas

Después de observar que si hay crecimiento del lactobacilos en la masa estéril y que la cepa de *Lactobacillus casei* Shirota tenía un mayor crecimiento se decidió utilizarla para las pruebas posteriores y para la formulación del alimento funcional.

Una vez que se establecieron las condiciones para obtener mayor crecimiento de lactobacilos en la masa fermentada se procedió a formular el dulce de maíz con harina de amaranto saborizado con pulpa de fruta natural y endulzada con el edulcorante natural stevia (Figura 3).

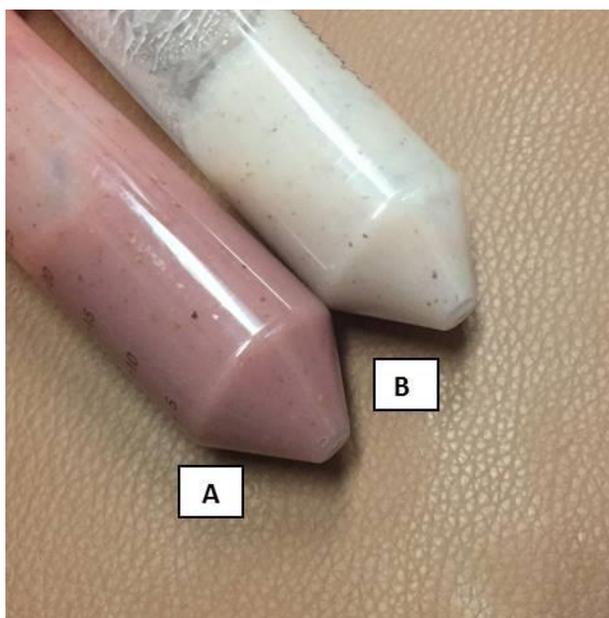
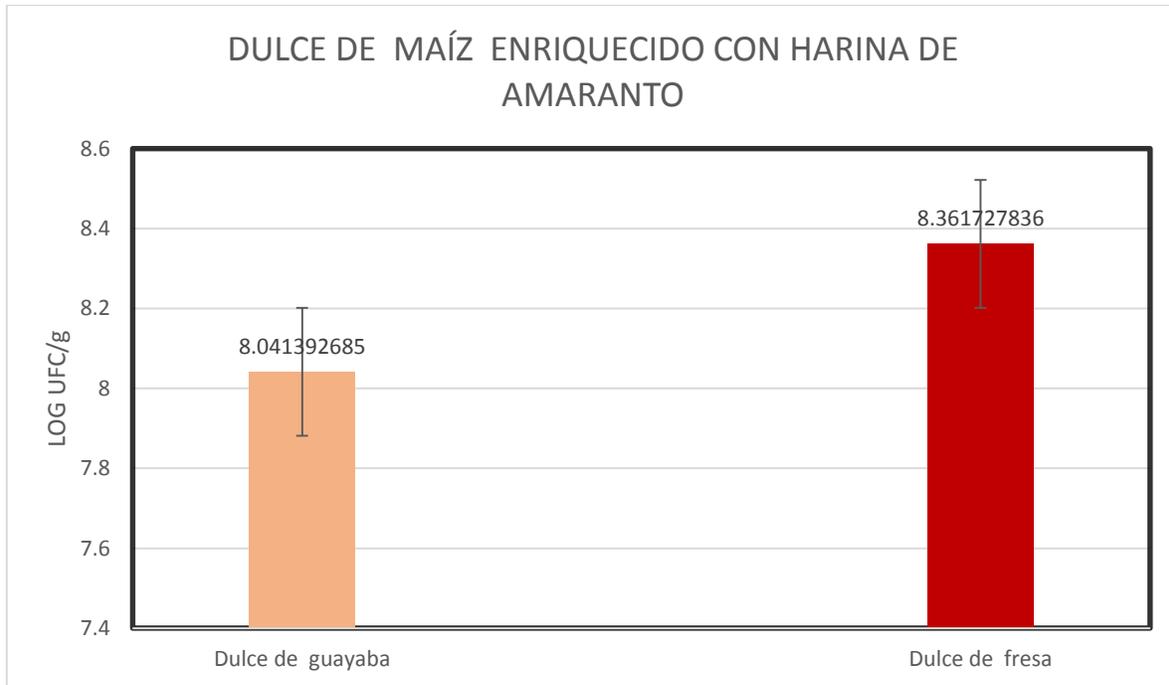


Figura 3 Dulce Funcional con Masa de Maíz/amaranto fermentado con lactobacilos saborizado con pulpa de fresa (A) y Pulpa de Guayaba (B) Endulzado con Stevia

Los resultados obtenidos después de elaborado el alimento indican que después de 24 horas se obtuvo un crecimiento de 10^8 UFC/g y puede observar en la gráfica

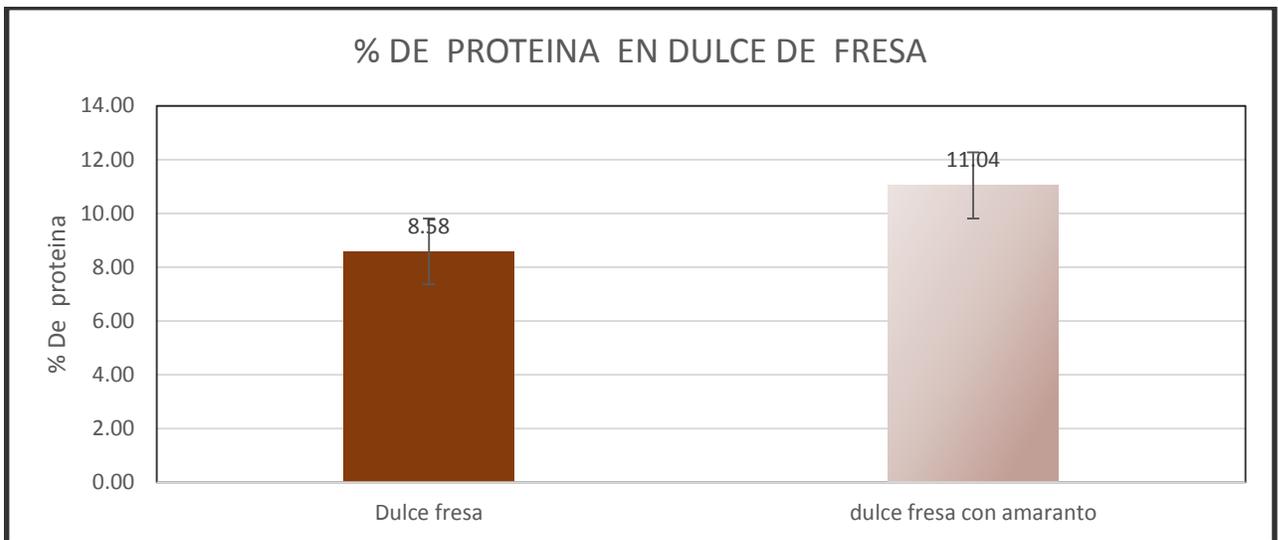
que el dulce saborizado con pulpa de fresa presenta un mayor crecimiento de lactobacilo.(Grafica 9)



Gráfica 9. Viabilidad de *L. casei* Shirota en dulce de guayaba y fresa

7.5 Análisis bromatológico del dulce.

Al cuantificar la cantidad de nitrógeno proteico por el método de Kjeldahl del alimento elaborado con 24% de harina de maíz y 6% harina de amaranto (p/p) y llevado a fermentación se puede observar que el control que está compuesto de maíz y pulpa de fruta presenta menor contenido de proteína, mientras que el otro tratamiento que está compuesto de harina de amaranto adicionada al producto final presenta un mayor contenido de proteína



Gráfica 10. Contenido de Proteína En dos diferentes ensayos

De los resultados obtenidos y de acuerdo a la bibliografía consultada, mantener la viabilidad de un microorganismo probiótico en un producto no es sencillo ya que depende de factores como la disponibilidad de los nutrientes así como factores de crecimiento, inhibidores de crecimiento, la concentración de solutos el nivel de inoculación, la temperatura de inoculación, la temperatura de incubación así como la temperatura de almacenamiento del alimento, sin embargo en el presente trabajo se confirmó que es posible mantenerlos viables en una masa de maíz pigmentado y también se logró aumentar su viabilidad y su contenido al adicionar a la formulación harina de amaranto, que es una fuente importante de proteína. (Grafica 10)

VIII. CONCLUSIONES

Se logró formular un dulce de maíz enriquecido con harina de amaranto y fermentado con probióticos y saborizado con fruta natural de guayaba y fresa. Obteniendo mayor viabilidad en el dulce que estaba saborizado con pulpa de fresa.

Se logró hacer un cambio en medio de cultivo, inicialmente se usaba caldo MRS y en la etapa final del proyecto se hizo un cambio a suero de leche como medio de cultivo para que pudieran crecer los lactobacilos. Las condiciones establecidas con suero de leche como medio de cultivo permitieron reducir costos y tiempo para que se llevara a cabo la fermentación.

El método propuesto para fermentar la masa de maíz y harina de amaranto sin nixtamalizar permitió alcanzar concentraciones para *L. casei* Shirota de del orden de 10^8 UFC la concentración mínima en el intervalo de 10^9 - 10^8 UFC/g Asegura la función probiótica , ya que si se tiene una concentración menor o igual a 10^6 UFC, el probiotico es incapaz de ejercer su beneficio a la salud (Gómez et al., 2008) de ahí la importancia de la mantener la viabilidad del lactobacilo en el dulce.

Con la adicción de harina de amaranto sin nixtamalizar se logró aumentar contenido de proteína hasta un 11% en el alimento saborizado con pulpa natural de fresa y endulzado con el edulcorante no calórico stevia.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food chemistry*, 152, 46-55.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 6182-6187.
- Bressani, R. (1991). Protein quality of high-lysine maize for humans. *Cereal Foods World* 36:806-811.
- Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A. M., ... & Gaiani, C. (2014). Lactic acid bacteria in dairy food: Surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in colloid and interface science*, 213, 21-35.
- Calderón de la Barca AM (2013). Nuevos paradigmas en enfermedad celiaca y sensibilidad al gluten no celiaca. *Revista de Gastroenterología de México* 78 (Supl 1):14-15.
- Carrera, Y., Utrilla-Coello, R., Bello-Pérez, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2015). In vitro digestibility, crystallinity, rheological, thermal, particle size and morphological characteristics of pinole, a traditional energy food obtained from toasted ground maize. *Carbohydrate polymers*, 123, 246-255.
- Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.

- Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1063-1072.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Serna-Saldivar, S. O., & Talcott, S. T. (2006). Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, 39(6), 696–703. doi:10.1016/j.foodres.2006.01.014
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- Jiménez P.C. (2014). Utilización de maíz pigmentado para la elaboración de un alimento funcional. Tesis de Especialidad en Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, México, Distrito Federal. 47 pag.
- Khaing, A. A., Moe, K. T., Chung, J. W., Baek, H. J., & Park, Y. J. (2013). Genetic diversity and population structure of the selected core set in *Amaranthus* using SSR markers. *Plant Breeding*, 132(2), 165-173.
- Konczak, I., & Zhang, W. (2004). Anthocyanins—more than nature's colours. *BioMed Research International*, 2004(5), 239-240.
- Gómez, S., Nova, E., y Marcos, A (2008). Probióticos. In *Alimentos Funcionales. Aproximación A una Nueva Alimentación* (pp. 90-103). Madrid, España.
- López-Mejía, O. A.; López-Malo, A. and Palou, E. (2014). Antioxidant capacity of extracts from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seeds or leaves. *Industrial Crops and Products* 53 (2014): 55-59.

- Morán B. S. H., L. Cortes E., E. Espitia R., D. M. Sangerman-Jarquín (2012). *Tzoalli*, de cuerpo de dioses a alegría de mortales. *In*: Espitia Rangel E. (ed.) *Amaranto: Ciencia y Tecnología*. Libro Científico No. 2. INIFAP/SINAREFI. México, pp 15-27.
- Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., & Kanter, M. (2000). Whole-grain products and antioxidants. *Cereal foods world* 45(2), 59-63.
- Morán-Bañuelos S. H. y R. Soriano-Robles (2014). Diversidad biológica en la agricultura periurbana del Distrito Federal, México. *In*: AMER. Sustentabilidad y Recursos Naturales. En prensa.
- Ramírez R. G. y León S. R. (2009). El Maíz y la nixtamalización. Capítulo en el libro: Viniegra G. (ed). *Temas selectos del maíz, el nixtamal y la tortilla*. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. pp. 143-175.
- Ramírez-Romero G., D. Rico M., S. H. Morán B. (2013). Tortillas de maíz pigmentado enriquecidas con nopal y amaranto. Memoria de Resúmenes de la 5ª Reunión Nacional sobre el mejoramiento, conservación y usos de maíces criollos. San Cristóbal de las Casas, Chiapas del 25 al 27 de septiembre de 2013. pp. 97
- WGO. Organización Mundial de Gastroenterología (2008) Guías prácticas: Probióticos y Prebióticos. Pag. 22
- http://www.lancet.mx/GASTRO/probioticos_prebioticos_es.pdf