



TSIA

Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS PUEBLA

EDITORIA EN JEFE

María Teresa Jiménez Munguía

CONSEJO EDITORIAL

Volumen 18 - 2024

Mónica Dávila Rodríguez

Gabriel A. Cardoso Ugarte

Paola Hernández Carranza

José Eduardo Lucero Mejía

Emma Mani López

Jocksan Morales Camacho

DISEÑO EDITORIAL

Angélica Cabañas Ramírez

CORRECCIÓN DE ESTILO

Andrea Garza Carbajal

Román Esaú Ocotitla Huerta

Beatriz Ramírez Berttolini

TSIA año 18, volumen 18 (2024) es una publicación anual de la Universidad de las Américas Puebla, realizada y distribuida por el Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir s/n, San Andrés Cholula, Puebla, C. P. 72810. Teléfono: (222) 229 2126, www.udlap.mx, mariat.jimenez@udlap.mx. Editora responsable: María Teresa Jiménez Munguía. Responsable de la última actualización de este número: Servicios Web y Administración de Contenidos. Ex hacienda Santa Catarina Mártir s/n, San Andrés Cholula, Puebla, C. P. 72810. Fecha de la última modificación: 21 de julio de 2026.

Esta revista se publica bajo licencia de Creative Commons Atribución-No comercial-Compartir Igual 4.0 Internacional. CC BY-NC-SA 4.0



Los artículos publicados en TSIA Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos se someten a revisión por pares en el sistema de «doble ciego». Los árbitros no conocen el nombre de los autores del texto que revisan, ni los autores los nombres de quienes lo revisan.

La responsabilidad del contenido de los artículos corresponde exclusivamente a los autores, y no necesariamente refleja la postura de los editores, miembros del consejo y comité editoriales o de la Universidad de las Américas Puebla.

UDLAP[®]





CONTENIDOS

Carta editorial
Volumen 18

07.

**La composición de las sales en la leche:
efecto del procesamiento e implicaciones
de la fortificación en productos lácteos**

08.

Mariana Aguilar-Morales y María Teresa Jiménez-Munguía

**Potencial de las proteínas dulces
para su uso en alimentos**

26.

Mariana Muñoz Santacruz, Jocksan I. Morales Camacho y Silvia Luna Suárez

**El papel de los probióticos en el desarrollo
de bebidas fermentadas no lácteas**

40.

Laura Karen Bernal Pérez, Laura Marissa Islas Romero
y Ana Eugenia Ortega Regules

**Retos y oportunidades en el diseño y
optimización de emulsiones alimentarias**

64.

Regina Navarrete González y Enrique Palou García

**Aplicación de los susceptores en el procesamiento
de alimentos mediante microondas**

80.

Flor Elizabeth de León-Serna y Nelly Ramírez-Corona

VOL. 18

VOL



Carta editorial

VOL. 18

En un contexto en el que la ciencia de los alimentos enfrenta el desafío constante de responder a las crecientes demandas de calidad, sostenibilidad e innovación, la presente publicación reúne una serie de contribuciones que reflejan la diversidad de enfoques que hoy caracterizan esta área. Los artículos que conforman esta edición han sido elaborados por estudiantes del Doctorado en Ciencia de Alimentos de la Universidad de las Américas Puebla, bajo la guía de las y los integrantes del núcleo académico del programa.

Los artículos que integran este volumen 18 de *TSIA* abordan, desde distintas perspectivas, la estrecha relación entre la composición, la funcionalidad y el procesamiento de los alimentos, y ofrecen al lector un panorama crítico y actualizado sobre temas clave. El primer artículo discute el efecto de la composición de las sales (minerales) en la leche y su impacto en el procesamiento y la fortificación, además de aportar elementos relevantes para el desarrollo de productos lácteos con valor nutricional agregado. En la segunda contribución se presentan alternativas innovadoras para reducir el contenido de azúcares en la formulación de alimentos, destacando el potencial de las proteínas dulces como ingredientes funcionales. El tercer artículo explora el creciente interés en bebidas fermentadas no lácteas, resalta sus beneficios potenciales, el papel de los microorganismos probióticos y los retos tecnológicos asociados a su desarrollo. La cuarta contribución profundiza en los principios que rigen la formulación de emulsiones, fundamentales para la textura, la estabilidad y la aceptación sensorial de diversos productos alimenticios. Finalmente, el último artículo aborda el uso de materiales avanzados que permiten mejorar la eficiencia y la uniformidad del calentamiento mediante microondas, contribuyendo al desarrollo y la optimización de procesos térmicos en la industria alimentaria.

A lo largo de su historia, *TSIA* se ha constituido como un espacio en el que el aprendizaje trasciende el aula y se materializa en productos académicos de calidad. La experiencia de participar en la elaboración de un manuscrito científico y en las distintas etapas del proceso editorial constituye una herramienta formativa invaluable, que prepara a las y los estudiantes para los retos de la investigación y la divulgación científica a nivel profesional. Reconocemos el compromiso y la dedicación del estudiantado, así como el apoyo y la orientación del profesorado del programa, cuyo trabajo hace posible esta publicación. Esperamos que este esfuerzo no solo ayude a formar recursos humanos de alto nivel, sino que también fortalezca la cultura científica y editorial en el ámbito de la ciencia de los alimentos.

Dra. Nelly Ramírez Corona

Profesora del núcleo académico
Doctorado en Ciencia de Alimentos
Universidad de las Américas Puebla



La composición de las sales en la leche:

efecto del procesamiento e implicaciones de la fortificación en productos lácteos

Mariana Aguilar-Morales* y María Teresa Jiménez-Munguía

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

Correos electrónicos: mariana.aguilarms@udlap.mx • mariat.jimenez@udlap.mx

Aguilar Morales, M. y Jiménez Munguía, M. T. (2024). La composición de las sales en la leche: efecto del procesamiento e implicaciones de la fortificación en productos lácteos. *TSIA*, 18.

RESUMEN

Las sales en la leche representan del 6 al 7 % (p/p) de los sólidos totales. A pesar de ser una fracción relativamente pequeña, juegan un rol crítico en la determinación de la estabilidad del sistema, principalmente por su influencia en la estructura y funcionalidad de las proteínas lácteas. El presente documento tiene como objetivo recopilar los avances recientes en el estudio de la partición de sales en las fases de la leche. Además, describe la influencia que las operaciones unitarias de concentración, fraccionamiento y tratamiento térmico tienen en el equilibrio salino del sistema lácteo. Finalmente, se plantean algunas consideraciones para la fortificación de derivados lácteos. Conocer los factores que afectan el equilibrio dinámico de las sales en la leche es fundamental en la definición de las propiedades fisicoquímicas y nutrimentales de productos lácteos fortificados, especialmente en aquellos sujetos a múltiples etapas de procesamiento durante su manufactura, como es el caso de las fórmulas infantiles.

Palabras clave: sales, calcio, fosfato, caseínas, proteínas de suero.

ABSTRACT

Milk salts account for 6 to 7 % (w/w) of the total solids in milk. Although it is a relatively small fraction, it plays an essential role in the determination of the milk's system stability, driven mainly by its influence on the structure and functionality of milk proteins. The present paper compiles the advancement related to the study of salt partition in milk phases. Furthermore, it describes the influence of concentration, fractioning, and thermal treatment unit operations in the salt equilibria of the milk system. Finally, it presents some considerations to account for during the fortification of dairy products. Understanding the factors affecting the dynamic equilibrium of milk salts is critical to define the physicochemical and nutritional properties of dairy products, especially in those subject to multiple processing steps during its manufacture, such as the case of infant formulas.

Keywords: salts, calcium, phosphate, caseins, whey protein.

INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos constituyen un vehículo importante para proveer la fortificación nutricional necesaria a diversos segmentos de la población. En algunos casos, dicha fortificación constituye un requisito obligatorio para la comercialización de ciertos derivados lácteos, como es el caso de las fórmulas infantiles (DOF, 2012). Sin embargo, los procesos involucrados en la manufactura de estos productos, aunado a la adición de sales con los fines antes descritos, representan factores importantes que podrían alterar la estabilidad final del producto, influir en el rendimiento y efectividad del procesamiento y afectar la biodisponibilidad del micronutriente en cuestión (Barone *et al.*, 2021).

De manera general, se estima que del 6 al 7 % (p/p) de los sólidos totales de leche bovina están compuestos por sales. Esta fracción está integrada por cationes (principalmente calcio, magnesio, sodio y potasio) y aniones (mayoritariamente fósforo inorgánico, citrato y cloro) (Bauland *et al.*, 2022). Además del análisis cuantitativo de las sales presentes en la leche, el estudio de la distribución de estos componentes, la forma química en la que se encuentran y las relaciones de asociación que presentan son de especial relevancia, debido a la marcada influencia que ejercen estos elementos en la conformación y estabilidad de las proteínas lácteas, en la actividad de algunas enzimas presentes de manera natural en la leche y, en menor medida, en la estabilidad lipídica del sistema lácteo (Gaucheron, 2011a; Fox *et al.*, 2015).

Dada la relevancia relacionada con el estudio de sales en la leche, se han publicado revisiones recientes que atienden algunos de estos puntos (Deeth y Lewis, 2015; Masotti *et al.*, 2020; Barone *et al.*, 2021; Barone *et al.*, 2022; Nieuwenhuijse y Huppertz, 2022b). La mayoría de estos trabajos se han enfocado en el estudio específico del calcio. Probablemente esto puede atribuirse a la proporción mayoritaria en la que se encuentra presente este mineral y al papel fundamental que juega en la estabilidad y funcionalidad de las proteínas lácteas, principalmente en las micelas de caseína. Sin embargo, no se han reportado revisiones que contemplen las consecuencias fisi-

coquímicas y de estabilidad resultantes de la modificación en el equilibrio salino global en la manufactura de productos lácteos.

El objeto de esta revisión es presentar el progreso en el estudio y análisis de la repartición de sales en las fases coloidales y solubles de la leche. También se discutirá la influencia que ejercen las operaciones unitarias del tratamiento térmico, la concentración y el fraccionamiento en el equilibrio dinámico salino del sistema lácteo, así como las consecuencias fisi-coquímicas que dicha distribución tiene en el sistema final. Finalmente, se revisarán de manera crítica algunas de las implicaciones de fortificar derivados lácteos con sales minerales.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Composición y distribución de las sales en la leche

La leche contiene sales orgánicas e inorgánicas. Esto comprende la presencia de iones orgánicos de importancia en la leche, como es el caso del fosfato orgánico y del citrato. Al hablar de las sales en la leche, es importante señalar que los términos *minerales* o *cenizas* no son considerados como equivalentes. El término *minerales* generalmente está asociado de forma exclusiva a compuestos inorgánicos. Por su parte, la obtención de cenizas del sistema lácteo resulta en la pérdida de incineración de citrato y acetato, y podría evaporar iones cloro y azufre (Walstra *et al.*, 2005; Noeparvar, 2018; Nieuwenhuijse y Huppertz, 2022b).

Las sales en la leche se encuentran distribuidas de forma soluble en el suero de leche (fase soluble o sérica) o bien asociados a las caseínas (fase micelar o coloidal). Un tercio del calcio, la mitad del fosfato inorgánico, dos tercios del magnesio y más del 90 % del ion citrato y el sodio se encuentran en la fase soluble de la leche. En esta fase, los iones pueden estar asociados entre ellos para formar sales como citrato de calcio, fosfato de calcio y cloruro de sodio. También es posible que se encuentren en sus formas iónicas libres. En contraste, la presencia de cationes divalentes (principalmente Ca^{2+} y Mg^{2+} y, en menor medida, Zn^{2+} y Mn^{2+}) domina en la fase micelar. Estos pueden

estar unidos mediante enlaces iónicos a los residuos fosforilados de serinas o, en menor medida, a los grupos carboxílicos de los aminoácidos aspartato o glutamato. Adicionalmente, el calcio y el fósforo pueden estar asociados en la forma de fosfato de calcio micelar (MCP, por sus siglas en inglés) en estructuras dentro de la micela, conocidas como *nanoclusters* (Gaucheron, 2005; Bauland *et al.*, 2022; Nieuwenhuijse y Huppertz, 2022).

Estos aglomerados han sido sujetos de investigación exhaustiva debido al papel fundamental que juegan en la estabilización de la estructura cuaternaria de las micelas y, consecuentemente, en la estabilidad y funcionalidad de los productos lácteos (Dumpler, 2018). La tabla I resume la composición, distribución y forma de asociación de las sales e iones presentes de manera natural en la leche.

Tabla I. Composición y distribución de iones en las distintas fases de la leche (micelar y soluble)

Ion	Localización	%	Concentración total por fase (mmol L ⁻¹) ^d	Forma de asociación ^d	Concentración según forma química (mmol L ⁻¹)
Ca	Fase soluble ^a	34	9.0	[Ca ²⁺]	2.0
				[CaCit ⁻]	6.9
				[CaPO ₄ ⁻]	0.6
				α-lactalbúmina	0.5
	Fase micelar	66	21.0	Caseínas	19.4
Mg	Fase soluble ^a	67	3.5	[Mg ²⁺]	1.2
				[MgHPO ₄ ^d]	0.7
				[Mg ₃ Cit ₂]	1.8
				MgCl ₂	0.1
	Fase micelar	33	1.5	Caseínas	1.9
Na	Fase soluble ^a	98	21.5	[Na ⁺]	21.0
				[NaCl]	0.4
	Fase micelar	2	0.5	Caseínas	0.5
K	Fase soluble ^a	92	34.3	[K ⁺]	36.3
				[KH ₂ PO ₄]	0.1
				[K ₂ HPO ₄]	0.7
				[KCl]	0.6
	Fase micelar	8	0.7	*	
P (orgánico) ^b	Fase soluble	31	2.6	Esterificado a fosfolípidos	0.3
				Ésteres de azúcares	2.4
	Fase micelar	69	5.7	Caseínas	5.7
P (inorgánico) ^c	Fase soluble ^a	52	11.0	[H ₂ PO ₄ ⁻ / HPO ₄ ²⁻]	11.0
	Fase micelar	48	10	Coloidal (MCP ^{**})	10

Tabla I. Composición y distribución de iones en las distintas fases de la leche (micelar y soluble) (continuación)

Ion	Localización	%	Concentración total por fase (mmol L ⁻¹) ^d	Forma de asociación ^d	Concentración según forma química (mmol L ⁻¹)
Citrato	Fase soluble ^a	90	8.1	Unido a Ca ²⁺ y Mg ²⁺	6.9
				Cit ³⁻	1.1
				HCit ³⁻	0.9
	Fase micelar	10	0.9	*	
Cloruro	Fase soluble ^a	100	30	[Cl ⁻]	27.8
				CaCl ₂	0.2
				MgCl ₂	0.1
				NaCl	0.3
				KCl	0.6
Hierro	Fase soluble	75	0.008	Membrana del glóbulo de grasa	0.001
				Asociado a proteínas séricas	0.004
				Asociado con componentes de bajo peso molecular	0.003
	Fase micelar	25	0.002	Caseínas	0.002

Fuente: elaboración propia con información de Wulansari Sugiarto (2004); Gaucheron (2005); Mekmene *et al.* (2009); Fox *et al.* (2015); Bauland *et al.* (2022); Lucey y Horne (2022); Nieuwenhuijse y Huppertz (2022a).

Notas:

^aLa composición de la fase soluble corresponde al permeado de la ultrafiltración de leche usando una membrana con un tamaño de poro de 10 kDa.

^b El fósforo orgánico comprende todo aquel que se encuentra ligado covalentemente a moléculas orgánicas (micelas de caseína, fosfolípidos, ADN, ARN, nucleótidos y azúcares fosfatadas) (Gaucheron, 2011b).

^c El fósforo inorgánico corresponde al ion fosfato, el cual puede adquirir diferentes formas químicas o estados de ionización (HPO₄²⁻ o H₂PO₄⁻), dependiendo del pH del medio (Gaucheron, 2011b).

^d Discrepancias entre las sumatorias totales de las columnas concentración total por fase (mmol L⁻¹) y forma de asociación pueden atribuirse al método analítico o modelo utilizado para estimar la concentración de la forma salina estudiada.

*Información no disponible.

**MCP: por sus siglas en inglés, fosfato de calcio micelar.

Por lo anterior, el estudio de la distribución y el equilibrio de sales en la leche está íntimamente ligado a la modelación de la estructura de las micelas de caseína y, en seguida, a la puesta a prueba de tales modelos a través de observaciones experimentales. Lo anterior supone un reto, pues las caseínas son foproteínas que no cristalizan, razón que explica el porqué del

desconocimiento de la estructura exacta de la micela y, consecuentemente, de los aglomerados de fosfato de calcio micelar dentro de ella (Lenton *et al.*, 2020; Enax *et al.*, 2022). Actualmente no existe un modelo de la estructura de la micela de caseína que la comunidad científica reconozca de manera unánime; no obstante, se reconoce el papel biológico de estas

proteínas como transportadoras de calcio y fosfato de la madre al neonato; ello explica cómo la concentración de estos minerales en la leche sobrepasa de manera sustancial la solubilidad en agua del fosfato cálcico (Bauland *et al.*, 2022).

La unión de calcio y otros iones polivalentes a las estructuras proteínicas resulta en la reducción de la carga neta negativa de las micelas de caseína, lo que facilita la interacción entre ellas y podría conducir a la agregación. Este fenómeno se observa en tres de las cuatro fracciones de caseínas presentes en la leche bovina ($\alpha_{s2} > \alpha_{s1} > \beta$), razón por la cual se clasifican como sensibles al calcio (Huppertz *et al.*, 2018). En esta línea, diversos trabajos se han propuesto explicar la partición de sales en leche bovina entre las fases micelar y soluble, fundamentando los modelos generados en el conocimiento estructural de las fracciones de caseína (Holt *et al.*, 1981; Lyster, 1981; Mekmene *et al.*, 2009). Bijl *et al.* (2019) explican que una de las dificultades de estos modelos tiene que ver con la disconformidad entre las fórmulas químicas del fosfato de calcio micelar, comparada con aquel presente en la fase soluble. Aunque dicha diferencia es necesaria para explicar algunas observaciones experimentales, rompe la suposición inicial del equilibrio termodinámico entre los iones en la fase continua y aquellos presentes en la micela de caseína. Por lo anterior, Bijl *et al.* (2019) propusieron un modelo cuantitativo para describir las interacciones de los iones divalentes considerando la contribución individual de cada fracción de las caseínas sensibles al calcio. Concluyen que el modelo les permitió predecir que un promedio de 67 ± 10 % de las fracciones de caseínas estudiadas (α_{s2} , α_{s1} y β) se encuentran unidas a un ion divalente, comparado con un 80-90 % de los modelos propuestos anteriormente. Finalmente, señalan la importancia de desarrollar métodos para el estudio de la estructura de las micelas en estado nativo.

Para complementar los trabajos anteriores, es indispensable reconocer que la distribución del sistema salino lácteo se encuentra en intercambio permanente entre los iones en sus distintas fases (Bauland *et al.*, 2022). El estudio de la movilidad de sales entre las fases séricas y coloidales contribuye al entendimiento de los factores que modulan dicho equilibrio y las con-

secuencias tecnológicas que tal equilibrio pudiera tener. Entre los trabajos pioneros en este ámbito destacan los de Pierre *et al.* (1983) y Zhang y Aoki (1996). Ambos grupos de trabajo estudiaron el comportamiento del calcio y del fósforo en las micelas de caseína a través de resonancia magnética nuclear usando fósforo ^{31}P y ^{45}Ca como los núcleos de interés. Pierre *et al.* (1983) distinguieron la presencia de tres tipos de calcio, de acuerdo con las cinéticas de intercambio que seguían: rápido de intercambiar (demoraba solo unos minutos), lento para intercambiar (tardaba algunas horas) y no intercambiable (más de 24 horas sin movilidad). Por su parte, Zhang y Aoki (1996) estimaron que entre el 30-40 % del fosfato cálcico micelar pertenece a la categoría no intercambiable con la fase soluble, hecho que atribuyeron al involucramiento de esta fracción con estructuras de unión más estables.

Estudios recientes han corroborado las observaciones antes señaladas. Hindmarsh y Watkinson (2017) identificaron estructuras rígidas de fósforo en las micelas de caseína de las que el calcio fue quelado con el uso de 20 mM de EDTA. Reconocieron que estas estructuras no coinciden con las planteadas en modelos de la micela de caseína (Holt *et al.*, 1989; Horne, 1998), los cuales plantean la presencia de enlaces interproteínicos por fosfoserinas con calcio y a través de estos hacia el fosfato de calcio micelar. Por el contrario, Hindmarsh y Watkinson (2017) postulan que probablemente se trate de puentes de calcio para la unión de dos residuos de fosfoserinas, ya sea intra o interproteína.

En comparación con los trabajos relacionados con el calcio y el fosfato, el estudio de la distribución, interacciones y equilibrio influenciado por otros iones de importancia en la leche es limitado. Philippe *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la adición de diferentes cationes di y trivalentes en las características fisicoquímicas de las micelas de caseínas y en el balance de sales en el sistema lácteo estudiado. Reportaron el orden de asociación de los cationes a las micelas de caseínas como $\text{Fe}^{3+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$. Señalan que, para todos los casos, la asociación a las micelas no es directa, sino que se da a través de los aniones de citrato y fosfato inorgánico. Sobre los cambios

estructurales en la micela, observaron que la hidratación de estas disminuyó considerablemente en presencia de cualquiera de los cationes estudiados.

En cuanto a la distribución del magnesio en las distintas fases de la leche, Franzoi *et al.* (2018) monitorearon la distribución de sales en las fases sérica y micelar de leche bovina después de la coagulación mediante quimosina. Reportaron que el 48 % del magnesio presente en la leche se encontraba asociado a la fase coloidal, en contraste con 79 % del calcio que se encontraba en esta misma fase. Comparada con la del calcio, la proporción disminuida de magnesio en la fase micelar se atribuye a la baja afinidad que presenta este al fosfato inorgánico y al citrato. Además, se sabe que la repartición de este ion depende del pH y fuerza iónica del medio en donde, a menor pH, aumenta la concentración del ion magnesio (Mg^{2+}) en la fase sérica, lo cual pudiera tener un efecto desestabilizante en las proteínas lácteas (Philippe *et al.*, 2005; Huppertz, 2013; Begum, 2019).

Por su parte, los cationes monovalentes presentes en la leche (sodio y potasio) se encuentran principalmente distribuidos como iones libres en la fase soluble (Gaucheron, 2005). La asociación de iones monovalentes con los residuos negativamente cargados de las caseínas puede ocurrir; sin embargo, se trata de una unión más débil en comparación con la de los iones divalentes. Por lo anterior, la asociación de cationes potasio o sodio con dichos residuos aminoácidos es relevante solo en aquellos casos en los que la concentración de Na^+ o K^+ excede la de los iones divalentes (Nieuwenhuijse y Huppertz, 2022a). Huppertz y Fox (2006) estudiaron diferentes concentraciones de NaCl añadidas (75-850 mmol L^{-1}) en las propiedades fisicoquímicas de leche concentrada. Reportaron que no encontraron cambios en el tamaño de las micelas de caseína, pero sí reducciones en las cargas netas negativas de las mismas y en el pH de la leche. Los autores atribuyen dichas observaciones al aumento de la fuerza iónica en el sistema. La disminución de pH puede explicarse por la disociación incremental de los pares iónicos, efecto directamente proporcional a la fuerza iónica. En contraste, incrementar la fuerza iónica conlleva la disminución del coeficiente de actividad iónico del fosfato cálcico micelar y, por ende, al incremento concomitante de la solubilidad de dicha sal. Este fenómeno resulta en la migración de parte del

calcio micelar a la fase soluble. El incremento del contenido de calcio en la fase soluble conduce a la reducción de la carga negativa total de las micelas de caseína (Dagleish, 1984). Finalmente, respecto al efecto negligible en el tamaño de las micelas de caseína con la adición de NaCl, Huppertz y Fox (2006) señalan que podría atribuirse a la concentración relativamente baja de calcio micelar solubilizado ($< 2 mmol L^{-1}$), lo que permite mantener la integridad de la micela mediante repulsión electrostática y estérica.

En el caso de las proteínas del suero de leche, también se ha reportado el efecto de la interacción de iones monovalentes con estas. Se han identificado dos tipos de interacciones: 1) los cationes monovalentes reducen las fuerzas de repulsión electrostáticas entre las moléculas de proteínas cargadas negativamente, lo que incrementa la proximidad entre los grupos reactivos y 2) reducen la formación de puentes de cationes divalentes entre las moléculas (Havea *et al.*, 2002).

Por último, cabe destacar que los análisis *in silico* pueden representar una herramienta de gran apoyo en el estudio de la distribución mineral y su interacción con las proteínas lácteas. Rodzik *et al.* (2023) determinaron la unión preferencial del zinc a ciertos residuos aminoácidos de las caseínas (histidina, cisteína, glutamato y aspartato) mediante el uso de *software* de modelación y acoplamiento molecular.

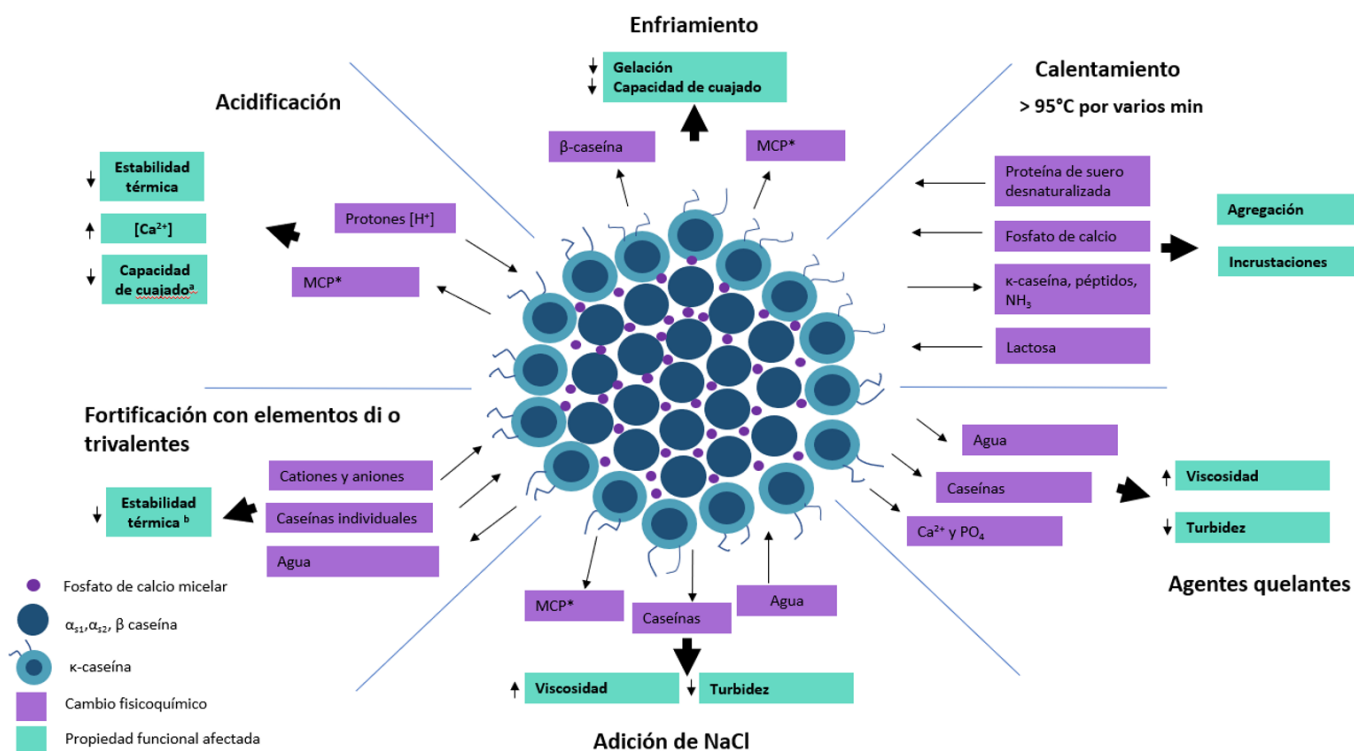
2. Cambios inducidos por el procesamiento de leche en el sistema de sales

Los cambios fisicoquímicos a los que está sujeta la leche a través de las diferentes operaciones unitarias involucradas en su procesamiento pueden alterar el balance en las sales distribuidas entre la fase coloidal y la fase soluble (de la Fuente, 1998).

Como se ha expuesto hasta ahora, el calcio juega un papel fundamental en el establecimiento de este equilibrio dinámico. La distribución de las diferentes formas de calcio en la leche está dada por la siguiente ecuación:



Ecuación 1.

**Figura 1.**

Modificaciones en el equilibrio salino en la leche, de acuerdo con diferentes condiciones fisicoquímicas.

De acuerdo con esta descripción, se observa que la concentración de calcio iónico ([Ca²⁺]) aumenta con la adición de iones hidronio (por ejemplo, durante un proceso de acidificación) o mediante la adición de sales de calcio solubles. La ecuación también permite explicar cómo, durante un proceso de calentamiento, al disminuir considerablemente la solubilidad de Ca₃(PO₄)₂, este precipita y se asocia con el fosfato cálcico micelar, lo que contribuye a la generación de H⁺ y a la disminución del pH de la leche durante el calentamiento (Lewis, 2011; Barone *et al.*, 2022; Lucey y Horne, 2022).

El presente apartado describe el efecto de las operaciones de concentración, fraccionamiento y tratamiento térmico en el balance mineral de las sales en la leche. La figura 1 ilustra algunos de los fenómenos involucrados en el procesamiento de productos lácteos y su influencia en el equilibrio de sales.

2.1. Efecto de la concentración y del fraccionamiento

En general, los procesos de concentración tienen un impacto en el equilibrio de sales. Esto se explica porque la solubilidad

de algunos productos puede verse superada, lo que provoca su precipitación y la disminución del pH del sistema (Walstra *et al.*, 1984; Fox *et al.*, 2015).

Markoska *et al.* (2019) utilizaron espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) para estudiar los cambios fisicoquímicos que experimenta la leche descremada durante la concentración por evaporación. Conforme aumentaba la cantidad de sólidos totales, observaron un incremento en el área bajo la curva de los picos 1,118, 1,075 y 1,041 cm⁻¹. Jaiswal *et al.* (2015) reportaron que el pico de 1,075 cm⁻¹ se ha relacionado con la presencia de grupos fosfato covalentemente unidos a las micelas de caseína; de este modo, en sistemas lácteos concentrados, un incremento en este pico puede asociarse con la asociación adicional de CaPO₄ a la micela.

Aprovechando la diferencia en tamaño entre las micelas de caseína (200 nm de diámetro) y las proteínas de suero (3.6 nm), el uso de micro y ultrafiltración permite generar concentrados de proteínas lácteas con una proporción incremental de caseína

en comparación con la presente en la leche bovina (Bijl *et al.*, 2014; O'Mahony y Fox, 2014; Corredig *et al.*, 2019). Este tipo de productos presenta una solubilidad reducida, lo que constituye un factor limitante en su funcionalidad (Wu *et al.*, 2020). Dicho fenómeno se ha asociado principalmente con la interacción hidrofóbica entre micelas de caseínas y la interacción de las micelas con el calcio. Estos iones promueven la formación de entrecruzamiento entre las diferentes fracciones de caseína, lo que contribuye a la insolubilidad de los concentrados de proteína (Corredig *et al.*, 2019; Khalesi y FitzGerald, 2022). Kommneni *et al.* (2022) obtuvieron una reducción del 30 % del calcio micelar en concentrados de caseína micelar mediante la inyección de CO₂ durante el proceso de ultrafiltración. Reportaron que la disminución de este catión mejoró sustancialmente la solubilidad del polvo de caseína micelar. Señalaron también que la reducción de calcio resultó en la disminución del tamaño de las micelas de caseína, lo que se reflejó en valores de densidad aparente menores en los polvos estudiados en comparación con el control.

La reducción del calcio micelar en concentrados de proteína de leche, con el fin de mejorar la solubilidad, también puede lograrse mediante el uso de aditivos quelantes. García-Amezqueta *et al.* (2022) estudiaron el efecto de la adición de citrato de sodio y hexametáfosfato de sodio en soluciones de aislados de caseína micelar. En su artículo describen que, aunque ambos agentes quelantes afectan la organización de las micelas, el mecanismo de acción es diferente. En el caso del citrato de sodio, este agente forma complejos solubles de citrato de calcio y solubiliza el fosfato inorgánico; mientras que el hexametáfosfato parece actuar mediante reacciones de peptización, alterando la estructura de los aglomerados de fosfato cálcico micelar sin solubilizarlos.

Estudios recientes referentes a la concentración de proteínas de suero de leche y su relación con la fracción de sales presentes se han centrado principalmente en la evaluación de la composición de las incrustaciones formadas en los evaporadores y en la búsqueda de estrategias para utilizar el suero ácido. Tanguy *et al.* (2015) demostraron que el ácido utilizado para la separación del suero de la caseína tiene un efecto en la composición mineral de la corriente sérica y, consecuentemente, en la composición de las incrustaciones formadas durante la evapo-

ración. Señalaron que la presencia de citrato durante la concentración del suero favoreció la formación e insolubilización de citrato cálcico.

Por otro lado, el avance en el conocimiento y escalamiento de tecnologías asociadas al fraccionamiento de compuestos de interés ha propiciado el desarrollo de diversas fracciones especializadas de proteínas lácteas, potencialmente relevantes en productos nutricionales. Jiménez-Barrios *et al.* (2022) propusieron mejorar la estabilidad térmica de la lactoferrina separada mediante cromatografía de intercambio catiónico con el uso de fosfato de potasio, fosfato de sodio, citrato de potasio y citrato de sodio. Reportaron que la presencia de 2 mM/L de fosfato de potasio inhibió la agregación de la proteína parcialmente desdoblada. Esta observación coincide con lo reportado por Baer *et al.* (1979), quienes señalaron que el proceso de renaturalización de lactoferrina ocurre únicamente en la forma proteínica con menos del 5 % de saturación de hierro (apo). Sustentados en este reporte, Jiménez-Barrios *et al.* (2022) sugieren que la capacidad de re-naturación de la lactoferrina en presencia el fosfato de potasio podría estar ligada al efecto de esta sal en la capacidad de ligar hierro de la proteína.

Por otra parte, Barone *et al.* (2020) estudiaron diferentes técnicas de separación y concentración de la fracción de α -lactoalbúmina presente en el suero de leche. Demostraron que la concentración mediante filtración por membranas resultó en una concentración significativamente mayor de calcio iónico, comparada con las otras dos técnicas de fraccionamiento estudiadas. Esto es relevante, ya que concentraciones elevadas de calcio iónico durante el procesamiento de productos a base de suero de leche incrementan las interacciones proteína-proteína (agregación) y pueden provocar inestabilidad en el producto terminado (Bryant y McClements, 2000; G. Singh *et al.*, 2007).

En comparación con la lactoferrina y la α -lactoalbúmina, la separación y producción industrial de β -caseína aún no es económicamente viable. El interés de esta fracción —entre otras aplicaciones— radica en su potencial uso en la fortificación de fórmulas infantiles, dada la mayor proporción de esta proteína en la leche humana, comparada con la leche bovina (van der Schaaf *et al.*, 2022). McCarthy *et al.* (2013) purificaron β -caseína mediante coagulación con renina y solubilización en frío. Asimismo, promovieron la defosforilación de la fracción aislada

con el objetivo de aproximarse más al porcentaje de fosforilación presente en la fracción humana. Dicha desfosforilación redujo la sensibilidad de β -caseína a la precipitación por calcio, lo que resultó en emulsiones más estables a la floculación ante la adición de CaCl_2 .

2.2. Efecto del tratamiento térmico

El tratamiento térmico destaca como uno de los procesos más ampliamente utilizados en la industria láctea. Su principal objetivo es el de asegurar la calidad microbiológica de la leche mediante la destrucción de microorganismos patógenos y deteriorativos (Deeth y Smithers, 2018). También puede emplearse para inactivar enzimas nativas de la leche (Fox *et al.*, 2015), incrementar la fuerza del gel de yogur y mejorar la estabilidad térmica de leche concentrada (McCarthy *et al.*, 2022).

Al incrementar la temperatura de la leche, la constante de disociación del fosfato dihidrógeno aumenta. Esto resulta en la transformación parcial del H_2PO_4^- a HPO_4^{2-} , mismo que tiene una afinidad más alta hacia el ion calcio que H_2PO_4^- . Junto al calcio, HPO_4^{2-} forma HPO_4Ca ; sin embargo, dado que la fase soluble se encuentra sobresaturada, este precipita. Como consecuencia, y con el fin de restablecer el equilibrio en el sistema,

aumenta la cantidad de fosfato cálcico asociado a las micelas. Este fenómeno se intensifica con el incremento en la intensidad del tratamiento térmico. En la ausencia de micelas de caseína (por ejemplo, en el suero de leche o en el permeado ultrafiltrado de leche) es posible observar un precipitado arenoso en suspensión o en la superficie de los intercambiadores de calor. En consecuencia, los cambios en el equilibrio salino, junto con los productos de la reacción de Maillard generados durante el calentamiento, provocan una disminución del pH del sistema (Deeth y Lewis, 2017; Bauland *et al.*, 2022).

Bajo condiciones de tratamiento térmico más severas o en matrices específicas, algunos trabajos (J. Singh *et al.*, 2019; Loveday *et al.*, 2021) han reportado un incremento en la concentración de calcio iónico en la fase soluble. On-Nom *et al.* (2012) observaron que, en el estudio de fases solubles obtenidas mediante diálisis y tratadas a diferentes temperaturas, tanto el pH como el Ca^{2+} disminuyen conforme aumenta la temperatura. Esto contradice lo postulado por Rose (1962), quien sugería que la concentración de Ca^{2+} aumenta con la temperatura debido a la disminución del pH. La tabla II resume algunos tratamientos comúnmente aplicados a productos lácteos y su efecto en el pH y en la concentración de Ca^{2+} .

Tabla II. Efecto de algunos procesos en el pH y concentración de calcio iónico en la leche

Proceso	Cambio en el pH	Cambio en Ca^{2+}
HTST ^a	Mínimo	Disminuye
UHT ^b	Mínimo	Disminuye, pero se recupera durante el almacenamiento
Esterilización en contenedor	Disminuye	Puede aumentar o disminuir
Evaporación y ósmosis inversa	Disminuye	Incrementa moderadamente
Ultrafiltración	No cambia	Incrementa moderadamente
Congelación	No cambia	Disminuye
Reducción de pH y recuperación	No cambia	Incrementa
Altas presiones	Incrementa	No cambia

Fuente: elaboración propia con información de Deeth y Lewis (2017).

^a HTST: tratamiento a altas temperaturas, por corto tiempo (72-82 °C durante 15 o 30 segundos).

^b UHT: tratamiento a ultra alta temperatura (138-145 °C por 1-10 segundos).

Otros estudios sobre los cambios en el equilibrio salino durante el tratamiento térmico han buscado comprender la naturaleza del precipitado de fosfato de calcio formado a diferentes temperaturas. Wang y Ma (2020) investigaron el precipitado generado durante el calentamiento de leche descremada y soluciones de caseína micelar a 70, 80, 90 y 100 °C durante 15 minutos. A medida que aumentaba la temperatura de tratamiento, reportaron cambios significativos en los niveles de Ca y P en la fase sérica. Es relevante señalar que el precipitado de fosfato de calcio formado hasta 90 °C era de naturaleza ácida, similar al de los aglomerados de fosfato cálcico micelar nativo. En contraste, señalaron que los calentamientos a 100 °C resultaron en la formación de una sal alcalina, probablemente con estructura cristalina.

Mediante el uso de ^{31}P NMR y FTIR, Boiani *et al.* (2018) estudiaron en tiempo real los cambios en la estructura y distribución del fosfato cálcico formado durante el calentamiento de leche descremada y modificada con diferentes fuentes de caseína micelar. Además de cambios en la distribución mineral entre la fase coloidal y soluble, reportaron que, a temperaturas superiores a los 70 °C, se observa un cambio en la señal de fósforo inorgánico (Pi), interpretado como un aumento en su carga negativa del Pi. Por otra parte, explicaron que un decremento en la señal asociada a los *nanoclusters* de fosfato cálcico micelar se traduce como un incremento en la relación Pi:Ca, lo que afecta la estructura y composición de estos sistemas.

Aunque se sabe que la mayor parte del fosfato y del calcio en la fase soluble de la leche se insolubiliza durante el calentamiento entre 80-140 °C, aún no se comprende por completo el mecanismo que rige la distribución ni la composición de sales en función del tratamiento térmico aplicado o del sistema involucrado en el calentamiento. Este hecho puede atribuirse a la complejidad de monitorear la distribución de las sales lácteas a altas temperaturas y a la reversibilidad de algunas reacciones al enfriar la muestra de estudio (Yoo *et al.*, 2013; Nieuwenhuijse y Huppertz, 2022b).

3. Fortificación de productos lácteos con elementos inorgánicos

Similar a lo discutido hasta ahora, el estudio de la fortificación con sales de calcio ha recibido una especial atención, lo cual se atribuye, por una parte, a que la leche constituye una fuente rica y biodisponible de este mineral (Perego *et al.*, 2015; Luo *et al.*, 2020) y, por otro lado, a la influencia que la adición de estos materiales ejerce sobre la estabilidad térmica del producto fortificado (G. Singh *et al.*, 2007). Para su uso con fines de fortificación, las sales de calcio pueden dividirse en dos grandes grupos: insolubles y solubles. El primer grupo comprende sales de carbonato, fosfato y citrato. Como ventajas, las sales de este grupo no afectan la concentración de $[\text{Ca}_2^+]$ en la leche y no modifican el pH del sistema, por lo que, en general, no alteran la estabilidad térmica del mismo. Sin embargo, debido a su baja solubilidad, presentan la desventaja de generar sedimentos durante el procesamiento y la vida de anaquel de los productos fortificados (Crowley *et al.*, 2014; Barone *et al.*, 2022). En contraste, las sales solubles se componen de sales de cloruro, lactato y gluconato. Estas presentan una mejor biodisponibilidad en comparación con las anteriores (G. Singh *et al.*, 2007), aunque afectan considerablemente la estabilidad térmica del producto en cuestión (On-Nom *et al.*, 2012).

Entender el efecto de la fortificación en las propiedades finales del producto es especialmente relevante en la producción de fórmulas infantiles, ya que la fortificación con calcio y otros minerales es un requisito obligatorio en esta categoría de productos (DOF, 2012). Además, se trata de productos que pueden someterse hasta cinco ciclos de calentamiento diferentes, por lo que asegurar la estabilidad térmica es fundamental (Francisquini *et al.*, 2020).

Ante este reto, se han propuesto diversas estrategias. Barone *et al.* (2021) evaluaron distintas proporciones de sales solubles (cloruro de calcio) e insolubles (citrato de calcio) para alcanzar una fortificación de 1,500 mg de calcio L^{-1} en la fórmula infantil. Reportaron que, al utilizar proporciones con un valor

menor o igual al 50 % de CaCl_2 , se mantienen las propiedades fisicoquímicas estudiadas sin cambios aparentes. Por su parte, France *et al.* (2020) exploraron la reducción del tamaño de partícula en la fortificación de fórmulas infantiles con citrato de calcio y demostraron una mejora en la estabilidad coloidal de los sistemas fortificados con citrato de calcio micronizado, atribuida a una mayor afinidad de estas partículas con las micelas de caseína. Otras estrategias propuestas para la fortificación de productos lácteos con calcio incluyen la microencapsulación (Gomez-Betancur *et al.*, 2022), el uso de hidrocoloides para aumentar la viscosidad en la fase continua (Münchbach y Gerstner, 2010; Barone *et al.*, 2022), el uso de fosfato cálcico lácteo como ingrediente funcional (Anema, 2009; Wang y Ma, 2022) y la adición de sales diseñadas específicamente para el uso en fortificación de productos lácteos, como es el caso del citrato de calcio y potasio (Gadocal K®) (Ramasubramanian *et al.*, 2014).

La fortificación con magnesio ha sido estudiada por Abdulghani *et al.* (2015) y Begum (2019). En el primer estudio, usaron sulfato de magnesio para fortificar leche UHT con 320 mg L^{-1} de magnesio, con el objetivo de cubrir el 100 % de la ingesta diaria recomendada para adultos. Reportaron un incremento significativo en la viscosidad de las muestras fortificadas con magnesio, comparadas con el control sin fortificación; sin embargo, los valores reportados estaban por debajo de 10 mPa.s, considerando el umbral crítico para el inicio de la gelación en productos lácteos. Por su parte, Begum (2019) reportó que el enriquecimiento de magnesio en leche con 5 mmol L^{-1} de cloruro de magnesio resultó en un incremento en la concentración de magnesio iónico y magnesio total en la fase sérica.

Blinov *et al.* (2021) estudiaron el efecto de la adición de seis formas químicas diferentes de zinc en la estabilidad coloidal de la leche. Mediante espectroscopía electroacústica demostraron que, para la fortificación de la leche, es necesario usar compuestos que presenten constantes de inestabilidad bajas y que afecten en menor medida el radio hidrodinámico de las partículas en solución. Rana *et al.* (2018) utilizaron 22.5 ppm de acetato

de zinc para fortificar la leche y no observaron cambios en las propiedades fisicoquímicas estudiadas (pH, acidez, viscosidad, tiempo de coagulación y estabilidad ante el alcohol). Sin embargo, desde el punto de vista estructural, observaron mediante FTIR que el zinc se unió a sitios preferenciales de proteínas y grasas lácteas, en concordancia con lo reportado por Wulansari Sugianto (2004), quien identificó una concentración de >2.5 mM de zinc añadido como concentración crítica de este catión, a partir de lo cual observaron la formación de agregados y pérdida de solubilidad en las caseínas. Por su parte, la fortificación de leche con hierro es complicada porque se trata de un prooxidante potente (Deeth y Lewis, 2017). No obstante, al ser un micronutriente esencial, su incorporación en fórmulas infantiles es indispensable, especialmente para productos que vayan dirigidos a lactantes menores de seis meses (Domellöf *et al.*, 2014). Guzun-Cojocar *et al.* (2011) estudiaron la estabilidad oxidativa de emulsiones estabilizadas con β -Lactoglobulina (β -Lg) y caseinato de sodio, fortificadas con bisglicinato de hierro, sulfato de hierro y un complejo de hierro con etilendiaminotetracetato (EDTA). Reportaron que la afinidad de las proteínas por el hierro iónico desempeña un papel clave en la transferencia de este catión hacia la interfaz de la emulsión y, consecuentemente, en la estabilidad lipídica del sistema. Para los sistemas estudiados, reportaron una mejor estabilidad en el caso de las emulsiones estabilizadas con β -Lg y en presencia de bisglicinato de hierro. Entre otras estrategias para la fortificación de productos lácteos con hierro, destaca la propuesta por Raouche *et al.* (2009), quienes propusieron reemplazar parcialmente el calcio de las micelas de caseína por hierro. Observaron diferencias notables en el color: las muestras preparadas con cloruro ferroso fueron más oscuras que el control (muestra sin fortificación), mientras que aquellas con cloruro férrico presentaban tonos rojizos y amarillentos. Los autores destacan la importancia de estudiar la biodisponibilidad y mejorar la estabilidad térmica de estos sistemas para su posible aplicación en productos nutricionales.

Cabe señalar que, además del efecto de la adición de diversas sales en la estabilidad física del sistema de estudio, la distribución de las sales desempeña un papel significativo en la determinación de la funcionalidad del producto final. En este sentido, Huppertz y Timmer (2020) evaluaron el balance de sales en fórmulas infantiles comerciales y encontraron diferentes valores de mineralización de las caseínas, influido principalmente por el pH y por la forma química de las sales añadidas. Asimismo, se ha reportado que la coagulación inducida por pepsina durante la digestión *in vitro* de fórmulas infantiles fue severamente afectada por el porcentaje de mineralización de las caseínas (Huppertz y Lambers, 2020). Estos hallazgos sugieren que, especialmente en productos dirigidos a poblaciones vulnerables, como es el caso de las fórmulas infantiles, las consideraciones en la selección de las sales usadas para la fortificación deben contemplar de manera integral tanto la funcionalidad tecnológica como la digestiva del producto en cuestión.

4. Perspectivas futuras y necesidades de investigación en el estudio de la partición salina en lácteos

El uso generalizado de técnicas analíticas que permitan monitorear los cambios en el sistema salino lácteo de forma *in situ* permitirá consolidar el conocimiento en este campo y modular de manera más asertiva las condiciones de proceso utilizadas, así como las formas químicas adicionadas para la fortificación de productos lácteos. Algunos de estos trabajos, como el uso de NMR de ^{31}P y ^{45}Ca han sido expuestos en el presente documento. Entre otras técnicas prometedoras en esta área, destacan el uso de difracción de rayos X de ángulo pequeño (SAXS, por sus siglas en inglés) (Li *et al.*, 2022) y el desarrollo de sistemas que permiten monitorear el pH en tiempo real y en línea a temperaturas de hasta 140 °C (Aydogdu *et al.*, 2023).

Por otra parte, se ha descrito la forma en que la interacción de las sales, tanto con caseínas como con proteínas de suero de leche, determina en buena medida la estabilidad térmica y funcionalidad de la leche. Se expuso también que las propiedades funcionales de las proteínas están gobernadas por la estructura de las mismas (H. Singh y Li, 2022). Por lo anterior, estudios que

permitan evaluar el efecto de diversas condiciones de procesamiento en la estructura molecular de las proteínas prometen ser una estrategia para fortalecer el entendimiento en esta área de estudio. Entre estas estrategias, destacan los análisis *in silico* y técnicas de acoplamiento molecular. Delboni y Barroso da Silva (2016) demostraron la aplicación de técnicas de modelación para el estudio de la formación de complejos de α -Lactalbúmina, β -lactoglobulina y lactoferrina. Reportaron que, a 150 mM de solución salina, las fuerzas de repulsión disminuyen y las fuerzas de Van der Waals regulan la formación de complejos entre las proteínas mencionadas. En contraste, a concentraciones bajas de sales, los mecanismos de complejación están regulados por interacciones electroestáticas y cargas proteínicas. Es importante señalar que en este estudio la simulación no contempló el efecto particular de distintas sales, lo que plantea la pregunta: ¿son los efectos generalizados extrapolables a la contribución individual de cada sal presente en la leche? En cuanto a las caseínas, son destacables los trabajos de Du *et al.* (2023) y Farrell Jr. *et al.* (2002). Haciendo uso de simulaciones de dinámica molecular, Du *et al.* (2023) observaron que la presencia de calcio en las estructuras de caseína micelar resultaba en complejos extendidos y holgados, en comparación con las conformaciones más compactas observadas en los escenarios simulados de caseínas reducidas en calcio. Por su parte, Farrell Jr. *et al.* (2002) trabajaron con estrategias de minimización de energía para simular las interacciones sal-proteína entre iones divalentes y la fracción α_{s1} de caseína. Ambos grupos de trabajo concluyen que las simulaciones permiten dilucidar el papel del calcio en el bioensamblado de las micelas de caseína.

En esta línea, es interesante encontrar que ciertos autores comienzan a señalar la criticidad de descifrar el mecanismo de ensamble de las micelas de caseína y el papel que desempeñan diferentes iones en la formación de dichas estructuras. Esto se hace con el fin de habilitar el uso de proteínas recombinantes como sustitutos de proteínas lácteas. En el artículo de Hettinga y Bijl (2022) se describe con detenimiento el reto de fabricar *in vitro* los aglomerados de fosfato cálcico característicos de las micelas de caseína y las propiedades funcionales que estos

confieren a tales proteínas. Señalan que, aunque la capacidad de reensamblar fracciones de caseínas aisladas de leche de bovina ha sido demostrada, la habilidad de hacer micelas a partir de proteínas recombinantes queda por ser estudiada.

CONCLUSIONES

Como se ha expuesto hasta ahora, el estudio de la partición de sales en la leche no es precisamente nuevo. Sin embargo, se conoce relativamente poco a nivel fundamental y mecánico sobre los factores que rigen el equilibrio dinámico en los sistemas lácteos. Esto se ve exacerbado cuando se trabaja con matrices complejas, es decir, aquellas que han sido partícipes de múltiples operaciones unitarias durante su manufactura, que en su constitución se han alterado las proporciones de macro y micronutrientes de la leche nativa, o bien, que se consideran complejas por ambas causas. Este último caso representa a las fórmulas infantiles. Además de las consecuencias fisicoquímicas y de estabilidad térmica que la distribución de sales podría tener en el sistema, es indispensable considerar de manera exhaustiva el efecto que esta puede tener en la biodisponibilidad de nutrientes y, por ende, en la funcionalidad final planteada para el producto de estudio.

Por lo anterior, se ha señalado la relevancia de construir un entendimiento molecular y estructural como consecuencia de la distribución salina. Asimismo, se apunta a la oportunidad de investigar integralmente estos cambios en sistemas y procesos escalables, con el fin de poder traducir los hallazgos encontrados en productos comerciales.

AGRADECIMIENTOS

La autora Mariana Aguilar-Morales agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo financiero otorgado para sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Abdulghani, A. H., Prakash, S., Ali, M. Y. y Deeth, H. C. (2015). Sensory evaluation and storage stability of UHT milk fortified with iron, magnesium and zinc. *Dairy Science & Technology*, 95(1), 33-46. <https://doi.org/10.1007/s13594-014-0188-7>
- Anema, S. G. (2009). Stability of milk-derived calcium phosphate suspensions. *Dairy Science & Technology*, 89(3), 269-282. <https://doi.org/10.1051/dst/2009005>
- Aydogdu, T., O'Mahony, J. A., Huppertz, T., Magan, J. B. y McCarthy, N. A. (2023). Measuring pH of skim milk and milk permeate at ultra-high temperatures at laboratory and pilot scale. *International Dairy Journal*, 139, 105565. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105565>
- Baer, A., Oroz, M. y Blanc, B. (1979). Serological and fluorescence studies of the heat stability of bovine lactoferrin. *Journal of Dairy Research*, 46(1), 83-93. <https://doi.org/10.1017/S0022029900016885>
- Barone, G., Moloney, C., O'Regan, J., Kelly, A. L. y O'Mahony, J. A. (2020). Chemical composition, protein profile and physicochemical properties of whey protein concentrate ingredients enriched in α -lactalbumin. *Journal of Food Composition and Analysis*, 92, 103546. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103546>
- Barone, G., O'Regan, J., Kelly, A. L., y O'Mahony, J. A. (2021). Calcium fortification of a model infant milk formula system using soluble and insoluble calcium salts. *International Dairy Journal*, 117, 104951. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104951>
- Barone, G., O'Regan, J., Kelly, A. L., y O'Mahony, J. A. (2022). Interactions between whey proteins and calcium salts and implications for the formulation of dairy protein-based nutritional beverage products: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1254-1274. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12884>
- Barone, G., Yazdi, S. R., Lillevang, S. K., y Ahrné, L. (2021). Calcium: A comprehensive review on quantification, interaction with milk proteins and implications for processing of dairy products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(6), 5616-5640. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12844>
- Bauland, J., Gaucheron, F., y Croguennec, T. (2022). Milk salt composition, distribution and analysis. En *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 941-953). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00262-2>
- Begum, N. (2019). *Magnesium enrichment of skim milk* [Master degree Thesis]. Massey University.
- Bijl, E., de Vries, R., van Valenberg, H., Huppertz, T. y van Hooijdonk, T. (2014). Factors influencing casein micelle size in milk of individual cows: genetic variants

- and glycosylation of κ -casein. *International Dairy Journal*, 34(1), 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.08.001>
- Bijl, E., Huppertz, T., van Valenberg, H. y Holt, C. (2019). A quantitative model of the bovine casein micelle: ion equilibria and calcium phosphate sequestration by individual caseins in bovine milk. *European Biophysics Journal*, 48(1), 45-59. <https://doi.org/10.1007/s00249-018-1330-2>
- Blinov, A. V., Siddiqui, S. A., Nagdalian, A. A., Blinova, A. A., Gvozdenko, A. A., Raffa, V. V., Oboturova, N. P., Golik, A. B., Maglakelidze, D. G. e Ibrahim, S. A. (2021). Investigation of the influence of Zinc-containing compounds on the components of the colloidal phase of milk. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(7), 103229. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103229>
- Boiani, M., Fenelon, M., FitzGerald, R. J. y Kelly, P. M. (2018). Use of ^{31}P NMR and FTIR to investigate key milk mineral equilibria and their interactions with micellar casein during heat treatment. *International Dairy Journal*, 81, 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.01.011>
- Bryant, C. M. y McClements, D. J. (2000). Influence of NaCl and CaCl_2 on cold-set gelation of heat-denatured whey protein. *Journal of Food Science*, 65(5), 801-804. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb13590.x>
- Corredig, M., Nair, P. K., Li, Y., Eshpari, H. y Zhao, Z. (2019). Invited review: understanding the behavior of caseins in milk concentrates. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4772-4782. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15943>
- Crowley, S. V., Kelly, A. L. y O'Mahony, J. A. (2014). Fortification of reconstituted skim milk powder with different calcium salts: Impact of physicochemical changes on stability to processing. *International Journal of Dairy Technology*, 67(4), 474-482. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12150>
- Dalgleish, D. G. (1984). Measurement of electrophoretic mobilities and zeta-potentials of particles from milk using laser Doppler electrophoresis. *Journal of Dairy Research*, 51(3), 425-438. <https://doi.org/10.1017/S0022029900023724>
- de Kort, E., Minor, M., Snoeren, T., van Hooijdonk, T. y van der Linden, E. (2011). Effect of calcium chelators on physical changes in casein micelles in concentrated micellar casein solutions. *International Dairy Journal*, 21(12), 907-913. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.06.007>
- de la Fuente, M. A. (1998). Changes in the mineral balance of milk submitted to technological treatments. *Trends in Food Science & Technology*, 9(7), 281-288. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00052-1](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00052-1)
- Deeth, H. C. y Lewis, M. J. (2015). Practical consequences of calcium addition to and removal from milk and milk products. *International Journal of Dairy Technology*, 68(1), 1-10. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12188>
- Deeth, H. C. y Lewis, M. J. (2017). *High Temperature Processing of Milk and Milk Products*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118460467>
- Deeth, H. C. y Smithers, G. (2018). *Heat treatment of milk- overview*. IDF Factsheet; 001/2018/002. https://fil-idf.org/wp-content/uploads/2018/02/Factsheet-001_Heat-treatment-1-1.pdf
- Delboni, L. A. y Barroso da Silva, F. L. (2016). On the complexation of whey proteins. *Food Hydrocolloids*, 55, 89-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.11.010>
- Domellöf, M., Braegger, C., Campoy, C., Colomb, V., Decsi, T., Fewtrell, M., Hojsak, I., Mihatsch, W., Molgaard, C., Shamir, R., Turck, D. y van Goudoever, J. (2014). Iron requirements of infants and toddlers. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 58(1), 119-129. <https://doi.org/10.1097/MPG.000000000000206>
- Du, Z., Xu, N., Yang, Y., Li, G., Tai, Z., Li, N. y Sun, Y. (2023). Study on internal structure of casein micelles in reconstituted skim milk powder. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 437-452. <https://doi.org/10.1016/j.ijbio-mac.2022.10.135>
- Dumpler, J. (2018). *Heat stability of concentrated milk systems*. Springer Fachmedien. <https://doi.org/10.1007/978-3-658-19696-7>
- Enax, J., Meyer, F., Schulze zur Wiesche, E. y Eppe, M. (2022). On the Application of calcium phosphate micro- and nanoparticles as food additive. *Nanomaterials*, 12(22), 4075. <https://doi.org/10.3390/nano12224075>
- Farrell, Jr., H. M., Kumosinski, T. F., Malin, E. L. y Brown, E. M. (2002). The caseins of milk as calcium-binding proteins. En H. J. Vogel, *Calcium-Binding Protein Protocols* (Vol. 172, pp. 097-140). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/1-59259-183-3.097>
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. y O'Mahony, J. A. (2015). *Dairy chemistry and biochemistry*. Springer.
- France, T. C., Barone, G., O'Regan, J., Kelly, A. L. y O'Mahony, J. A. (2020). Physical and colloidal stability of conventional and micronised calcium citrate ingredient powders in the formulation of infant nutritional products. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 194, 111125. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111125>
- Francisquini, J. d'Almeida, Nunes, L., Martins, E., Stephani, R., Perrone, Í. T. y Carvalho, A. F. de. (2020). How the heat treatment affects the constituents of infant formulas: a review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, e2019272. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.27219>
- Franzoi, M., Niero, G., Penasa, M., Cassandro, M. y De Marchi, M. (2018). Technical note: development and validation of a new method for the quantification of soluble and micellar calcium, magnesium, and potassium in milk. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 1883-1888. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13419>
- García Amezcua, A., Alting, A. y Huppertz, T. (2022). Disruption of casein micelles by calcium sequestering salts: from observations to mechanistic insights. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4252540>

- Gaucheron, F. (2005). The minerals of milk. *Reproduction Nutrition Development*, 45(4), 473-483. <https://doi.org/10.1051/rnd:2005030>
- Gaucheron, F. (2011a). MILK SALTS | Distribution and analysis. En *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 908-916). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.000355-1>
- Gaucheron, F. (2011b). Milk and dairy products: a unique micronutrient combination. *Journal of the American College of Nutrition*, 30(sup5), 400S-409S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2011.10719983>
- Gomez-Betancur, A. M., Carmona-Tamayo, R., Martínez-Álvarez, O. L., Casanova-Yepes, H. y Torres-Oquendo, J. D. (2022). Effect of fat substitution using long-chain inulin and fortification with microencapsulated calcium in the rheological and sensory properties of yogurt mousse. *Journal of Food Process Engineering*, 45(7), e13433. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13433>
- Guzun-Cojocar, T., Koev, C., Yordanov, M., Karbowski, T., Cases, E. y Cayot, P. (2011). Oxidative stability of oil-in-water emulsions containing iron chelates: transfer of iron from chelates to milk proteins at interface. *Food Chemistry*, 125(2), 326-333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.004>
- Havea, P., Singh, H. y Creamer, L. K. (2002). Heat-induced aggregation of whey proteins: comparison of cheese wpc with acid WPC and relevance of mineral composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4674-4681. <https://doi.org/10.1021/jf011583e>
- Hettinga, K. y Bijl, E. (2022). Can recombinant milk proteins replace those produced by animals? *Current Opinion in Biotechnology*, 75, 102690. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102690>
- Hindmarsh, J. P. y Watkinson, P. (2017). Experimental evidence for previously unclassified calcium phosphate structures in the casein micelle. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 6938-6948. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12623>
- Holt, C., Dalgleish, D. G. y Jenness, R. (1981). Calculation of the ion equilibria in milk diffusate and comparison with experiment. *Analytical Biochemistry*, 113(1), 154-163. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(81\)90059-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(81)90059-2)
- Holt, C., van Kemenade, M. J. M., Nelson, L. S., Sawyer, L., Harries, J. E., Bailey, R. T. y Hukins, D. W. L. (1989). Composition and structure of micellar calcium phosphate. *Journal of Dairy Research*, 56(3), 411-416. <https://doi.org/10.1017/S0022029900028880>
- Horne, D. S. (1998). Casein interactions: casting light on the black boxes, the structure in dairy products. *International Dairy Journal*, 8(3), 171-177. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00040-5)
- Huppertz, T. (2013). Chemistry of the Caseins. En P. L. H. McSweeney y P. F. Fox (Eds.), *Advanced dairy chemistry: Basic aspects* (4ª ed., pp. 135-160). Springer.
- Huppertz, T. y Fox, P. F. (2006). Effect of NaCl on some physico-chemical properties of concentrated bovine milk. *International Dairy Journal*, 16(10), 1142-1148. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.011>
- Huppertz, T., Fox, P. F. y Kelly, A. L. (2018). 3-The caseins: structure, stability, and functionality. En R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in Food Processing (Second Edition)* (pp. 49-92). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00004-8>
- Huppertz, T. y Lambers, T. T. (2020). Influence of micellar calcium phosphate on in vitro gastric coagulation and digestion of milk proteins in infant formula model systems. *International Dairy Journal*, 107, 104717. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104717>
- Huppertz, T. y Timmer, C. (2020). Salt equilibria in nutritional formulae for infants and young children. *International Dairy Journal*, 110, 104805. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104805>
- Jaiswal, P., Jha, S. N., Borah, A., Gautam, A., Grewal, M. K. y Jindal, G. (2015). Detection and quantification of soymilk in cow-buffalo milk using Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared spectroscopy (ATR-FTIR). *Food Chemistry*, 168, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.010>
- Jiménez-Barrios, P., Jaén-Cano, C. M., Malumbres, R., Cilveti-Vidaurreta, F., Bellanco-Sevilla, A., Miralles, B., Recio, I. y Martínez-Sanz, M. (2022). Thermal stability of bovine lactoferrin prepared by cation exchange chromatography and its blends with authorized additives for infant formulas. *LWT*, 154, 112744. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112744>
- Khalesi, M. y FitzGerald, R. J. (2022). Insolubility in milk protein concentrates: Potential causes and strategies to minimize its occurrence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(25), 6973-6989. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1908955>
- Kommineni, A., Sunkesula, V., Marella, C. y Metzger, L. E. (2022). Calcium-reduced micellar casein concentrate-physicochemical properties of powders and functional properties of the dispersions. *Foods*, 11(10), 1377. <https://doi.org/10.3390/foods11101377>
- Lenton, S., Wang, Q., Nylander, T., Teixeira, S. y Holt, C. (2020). Structural biology of calcium phosphate nanoclusters sequestered by phosphoproteins. *Crystals*, 10(9), 755. <https://doi.org/10.3390/cryst10090755>
- Lewis, M. J. (2011). The measurement and significance of ionic calcium in milk-A review. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 1-13. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00639.x>
- Li, R., Christine Jæger, T., Rovers, T. A. M., Svensson, B., Ipsen, R., Kirkensgaard, J. K. y Byggrå Hougaard, A. (2022). In situ SAXS study of non-fat milk model systems during heat treatment and acidification. *Food Research International*, 157, 111292. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111292>
- Loveday, S. M., Weeks, M., Luo, D. y Cakebread, J. (2021). Type A and B bovine milks:

- Heat stability is driven by different physicochemical parameters. *Journal of Dairy Science*, 104(11), 11413-11421. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20201>
- Lucey, J. A. y Fox, P. F. (1993). Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review. *Journal of Dairy Science*, 76(6), 1714-1724. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77504-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77504-9)
- Lucey, J. A. y Horne, D. S. (2022). Milk salts: technological significance. En P. L. H. McSweeney, J. A. O'Mahony, & A. L. Kelly (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry* (pp. 297-338). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-92585-7_8
- Luo, M., Xiao, J., Sun, S., Cui, F., Liu, G., Li, W., Li, Y., y Cao, Y. (2020). Deciphering calcium-binding behaviors of casein phosphopeptides by experimental approaches and molecular simulation. *Food & Function*, 11(6), 5284-5292. <https://doi.org/10.1039/D0FO00844C>
- Lyster, R. L. J. (1981). Calculation by computer of individual concentrations in a simulated milk salt solution: II. An extension to the previous model. *Journal of Dairy Research*, 48(1), 85-89. <https://doi.org/10.1017/S002202990002149X>
- Markoska, T., Huppertz, T., Grewal, M. K. y Vasiljevic, T. (2019). FTIR analysis of physiochemical changes in raw skim milk upon concentration. *LWT*, 102, 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.011>
- Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknytė, M., Pica, V. y De Noni, I. (2020). Analytical advances in the determination of calcium in bovine milk, dairy products and milk-based infant formulas. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 348-360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.013>
- McCarthy, N. A., Kelly, A. L., O'Mahony, J. A. y Fenelon, M. A. (2013). The physical characteristics and emulsification properties of partially dephosphorylated bovine β -casein. *Food Chemistry*, 138(2), 1304-1311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.080>
- McCarthy, N. A., Magan, J. B., Kelleher, C. M., Kelly, A. L., O'Mahony, J. A. y Murphy, E. G. (2022). Heat treatment of milk: effect on concentrate viscosity, powder manufacture and end-product functionality. *International Dairy Journal*, 128, 105289. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105289>
- Mekmene, O., Le Graët, Y. y Gaucheron, F. (2009). A model for predicting salt equilibria in milk and mineral-enriched milks. *Food Chemistry*, 116(1), 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.039>
- Münchbach, M. y Gerstner, G. (2010). Calcium fortification in dairy products. *Food Marketing and Technology*, 24, 4-8.
- Nieuwenhuijse, H. y Huppertz, T. (2022a). Milk salts: interaction with caseins. En *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 54-960. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00279-8>
- Nieuwenhuijse, H. y Huppertz, T. (2022b). Heat-induced changes in milk salts: a review. *International Dairy Journal*, 126, 105220. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105220>
- Noeparvar, P. (2018). *Development of a computational framework for the prediction of free-ion activities ionic equilibria and solubility in dairy liquids* [Ph. D. Thesis]. University of Canterbury.
- O'Mahony, J. A. y Fox, P. F. (2014). Milk: an overview. En *Milk Proteins*, 19-73. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405171-3.00002-7>
- On-Nom, N., Grandison, A. S. y Lewis, M. J. (2012). Heat stability of milk supplemented with calcium chloride. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1623-1631. <https://doi.org/10.3168/jds.2011.4697>
- Perego, S., Favero, E. D., Luca, P. D., Piaz, F. D., Fiorilli, A., Cantu', L. y Ferraretto, A. (2015). Calcium bioaccessibility and uptake by human intestinal like cells following in vitro digestion of casein phosphopeptide-calcium aggregates. *Food & Function*, 6(6), 1796-1807. <https://doi.org/10.1039/C4FO00672K>
- Philippe, M., Le Graët, Y. y Gaucheron, F. (2005). The effects of different cations on the physicochemical characteristics of casein micelles. *Food Chemistry*, 90(4), 673-683. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.001>
- Pierre, A., Brule, G. y Fauquant, J. (1983). Etude de la mobilité du calcium dans le lait à l'aide du calcium 45. *Le Lait*, 63(633-634), 473-489. <https://doi.org/10.1051/lait:1983633-63430>
- Ramasubramanian, L., D'Arcy, B. R., Deeth, H. C. y Oh, H. E. (2014). The rheological properties of calcium-induced milk gels. *Journal of Food Engineering*, 130, 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.01.020>
- Rana, B., Kaushik, R., Kaushal, K., Arora, S., Kaushal, A., Gupta, S., Upadhyay, N., Rani, P. y Kaushik, P. (2018). Physicochemical and electrochemical properties of zinc fortified milk. *Food Bioscience*, 21, 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.008>
- Raouche, S., Dobenesque, M., Bot, A., Lagaude, A. y Marchesseau, S. (2009). Casein micelles as a vehicle for iron fortification of foods. *European Food Research and Technology*, 229(6), 929-935. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1130-0>
- Rodzic, A., Król-Górniak, A., Railean, V., Sugajski, M., Gołębiowski, A., Horne, D. S., Michalke, B., Sprynskyy, M., Pomastowski, P. y Buszewski, B. (2023). Study on zinc ions binding to the individual casein fractions: AS1-, β - and κ -casein. *Journal of Molecular Structure*, 1272, 134251. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134251>
- Rose, D. (1962). Factors affecting the heat stability of milk. *Journal of Dairy Science*, 45(11), 1305-1311. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(62\)89617-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(62)89617-9)
- Singh, G., Arora, S., Sharma, G. S., Sindhu, J. S., Kansal, V. K. y Sangwan, R. B. (2007). Heat stability and calcium bioavailability of calcium-fortified milk. *LWT* -

- Food Science and Technology*, 40(4), 625-631. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.009>
- Singh, H. y Li, S. (2022). Functional properties of caseins and whey proteins. En P. L. H. McSweeney y J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)*, 579-585. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00250-6>
- Singh, J., Prakash, S., Bhandari, B. y Bansal, N. (2019). Comparison of ultra high temperature (UHT) stability of high protein milk dispersions prepared from milk protein concentrate (MPC) and conventional low heat skimmed milk powder (SMP). *Journal of Food Engineering*, 246, 86-94. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.11.003>
- Tanguy, G., Dolivet, A., Garnier-Lambrouin, F., Méjean, S., Coffey, D., Birks, T., Jeantet, R. y Schuck, P. (2015). Concentration of dairy products using a thin film spinning cone evaporator. *Journal of Food Engineering*, 166, 356-363. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.001>
- van der Schaaf, J. M., Crowley, S. V., Kelly, A. L. y O'Mahony, J. A. (2022). Fractionated casein ingredients - β -Casein. En *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 31-39. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00180-X>
- Walstra, P., Jenness, R. y Badings, H. T. (1984). *Dairy chemistry and physics*. Wiley.
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T. M. y Geurts, T. J. (2005). *Dairy Science and Technology, Second Edition*. Taylor & Francis.
- Wang, Q. y Ma, Y. (2020). Effect of temperature and pH on salts equilibria and calcium phosphate in bovine milk. *International Dairy Journal*, 110, 104713. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104713>
- Wang, Q. y Ma, Y. (2022). Characterization of calcium phosphate nanoparticles sequestered by phosphopeptides in response to heat treatment. *LWT*, 167, 113816. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113816>
- Wu, S., Li, G., Xue, Y., Ashokkumar, M., Zhao, H., Liu, D., Zhou, P., Sun, Y. y Hemar, Y. (2020). Solubilisation of micellar casein powders by high-power ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67, 105131. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105131>
- Wulansari Sugianto, M. (2004). *Studies on the Binding of Iron and Zinc to Milk Protein Products* [PhD Thesis]. Massey University.
- Yoo, S.-H., Kang, S.-B., Park, J.-H., Lee, K.-S., Kim, J.-M. y Yoon, S.-S. (2013). Effect of heat-treat methods on the soluble calcium levels in the commercial milk products. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(3), 369-376. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2013.33.3.369>
- Zhang, Z. P. y Aoki, T. (1996). Behaviour of calcium and phosphate in bovine casein micelles. *International Dairy Journal*, 6(8), 769-780. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(96\)00006-4](https://doi.org/10.1016/0958-6946(96)00006-4)



Potencial de las proteínas dulces para su uso en alimentos

Mariana Muñoz Santacruz*, Jocksan I. Morales Camacho y Silvia Luna Suárez

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

Correos electrónicos: mariana.munozsz@udlap.mx • jocksan.morales@udlap.mx

RESUMEN

El incremento de enfermedades crónico-degenerativas ha llevado a buscar alternativas de edulcorantes. Las proteínas dulces constituyen un grupo interesante de edulcorantes de origen natural; actualmente se han identificado seis: taumatina, monelina, mabinlina, brazeína, pentadina, y neoculina. Cada proteína posee diferentes características fisicoquímicas, por lo que su aplicación en alimentos dependerá de la estabilidad que presenten. Sin embargo, la extracción de proteínas dulces de su fuente natural produce bajos rendimientos. La obtención de estas proteínas dulces mediante la expresión heteróloga es una solución alternativa para la producción de proteínas recombinantes. Organismos como bacterias, levaduras y plantas, entre otros, se han estudiado para llevar a cabo esta expresión. La selección del sistema de expresión repercutirá en el rendimiento y los costos de producción. En esta revisión, se analizan varias estrategias de bioingeniería que han sido utilizadas para obtener proteínas dulces con altos rendimientos. Asimismo, este artículo presenta estudios recientes relacionados con las proteínas dulces, exponiendo sus características fisicoquímicas, efectos sobre la salud y posibles aplicaciones como edulcorantes no calóricos en la industria alimentaria.

Palabras clave: edulzante natural, proteínas dulces, proteínas recombinantes, expresión heteróloga, biorreactor.

ABSTRACT

The increase in chronic degenerative diseases has led to the search for alternative sweeteners. Sweet proteins constitute an interesting group of sweeteners of natural origin; currently six have been identified (thaumatin, monellin, mabinlin, brazzein, pentadin, and neoculin), each of which has different physicochemical characteristics, so their application in food will depend on their stability. However, when extracting sweet proteins from their natural source, low yields are obtained. Obtaining sweet proteins by heterologous expression is an alternative solution for the production of recombinant proteins. Organisms such as bacteria, yeast, plants, among others, have been studied to carry out heterologous expression. The selection of the expression system will have an impact on yield and production costs. Several bioengineering strategies that have been used to obtain sweet proteins with high yields are analyzed in this review. Moreover, this article presents recent studies related to sweet proteins, exposing their physicochemical characteristics, health effects and possible applications, as non-caloric sweeteners, in the food industry.

Keywords: natural sweetener, sweet proteins, recombinant proteins, heterologous expression, bioreactor.

INTRODUCCIÓN

El aumento global de enfermedades como la obesidad y diabetes *mellitus* ha llevado a la búsqueda de edulcorantes naturales saludables, que tengan un bajo o nulo aporte calórico y que posean un alto poder edulcorante. En la actualidad se han identificado seis proteínas de sabor dulce: brazeína, taumatina, monelina, neoculina, mabinlina y pentadina (Neiers *et al.*, 2016; Sharififar *et al.*, 2022). Así, el uso de proteínas dulces como edulcorantes naturales representa una nueva oportunidad para el consumo en pacientes diabéticos y aquellos con requerimientos nutricionales especiales, gracias a lo cual se pueden evitar los posibles efectos no deseados que se presentan al consumir azúcares naturales. Sin embargo, la extracción de proteínas dulces de su fuente natural resulta difícil, ya que estas fuentes a menudo son limitadas y la concentración del producto deseado generalmente es baja; por ello, se ha optado por hacer uso de la ingeniería genética (Tripathi y Shrivastava, 2019). Una de las ramas más importantes de la ingeniería genética es la expresión de proteínas recombinantes mediante sistemas de expresión biológica (Karbalaei *et al.*, 2020), los cuales se utilizan para la síntesis de proteínas heterólogas con importancia en diversos campos industriales (Gomes *et al.*, 2016). Distintos estudios encaminados a la producción de proteínas recombinantes han logrado que el rendimiento de la producción de proteínas se incremente, lo que permite su producción a escala industrial, utilizando como sistema de expresión bacterias, células de mamíferos, levaduras, células de insectos, plantas y animales transgénicos. Por ejemplo, la bacteria *Escherichia coli* ofrece una tasa de crecimiento rápida con un alto rendimiento del producto. Sin embargo, las bacterias tienen una maquinaria postraducciona muy limitada, lo cual puede afectar la estructura y, por tanto, la funcionalidad de las proteínas obtenidas. En contraste, las levaduras son capaces de realizar modificaciones postraduccionales (PTM) y de obtener proteínas recombinantes a gran escala con bajos requerimientos de crecimiento. Actualmente, las levaduras *Sac-*

charomyces cerevisiae y *Pichia pastoris* son los sistemas más utilizados para la producción de proteínas. Las líneas celulares de mamíferos son otro tipo de sistema de expresión que se han utilizado para la producción de fármacos; desafortunadamente, representan una alternativa de producción de proteínas costosa debido a los procesos de extracción y purificación requeridos. Por lo tanto, es muy importante llevar a cabo la evaluación de cada una de las condiciones de expresión de cada proteína recombinante en conjunto con el desarrollo de bioprocesos efectivos (Tripathi y Shrivastava, 2019).

El presente artículo aborda diversos estudios realizados sobre las proteínas dulces, en el que se describen sus características fisicoquímicas, sus efectos en la salud y sus posibles aplicaciones como endulzantes no calóricos en la industria de los alimentos. Asimismo, se describirán diversas estrategias de bioingeniería que se han empleado para obtener proteínas dulces con altos rendimientos.

1. Proteínas dulces

El consumo excesivo de azúcar ha ocasionado varios efectos indeseables para la salud de los consumidores, lo que ha llevado a sectores industriales alimenticios y a las autoridades reguladoras a realizar esfuerzos conjuntos para reducir las prácticas de consumo de azúcar en todo el mundo (Murasugi, 2010). Esto ha originado la necesidad de buscar sustitutos del azúcar que puedan reducir la ingesta de calorías. Asimismo, los edulcorantes bajos en calorías resultan ser una nueva oportunidad para el consumo en pacientes diabéticos y pacientes con requerimientos dietéticos específicos (Neiers *et al.*, 2016), ya que no provocan una demanda de insulina, a diferencia de la sacarosa, que sí lo requiere (Rega *et al.*, 2015). Además, este tipo de edulcorantes no se han asociado con el desarrollo de caries dental (García-Almeida *et al.*, 2013).

Los productos generados para reemplazar el uso de carbohidratos son conocidos como edulcorantes o sustitutos del azúcar (Stephens-Camacho *et al.*, 2018). Sin embargo, para que un edulcorante sea considerado eficiente, requiere cumplir

varios criterios: ser efectivos a bajas concentraciones, mantener su estabilidad y dulzor a diferentes temperaturas, tener un valor calórico bajo o nulo, ser compatible con las formulaciones, no mostrar variaciones de un lote a otro y, finalmente, ser baratos y fácilmente disponibles (Sharififar *et al.*, 2022).

La investigación y el desarrollo de nuevos edulcorantes bajos en calorías son de gran interés para la sociedad debido al aumento de enfermedades ligadas al alto consumo de azúcar, como la obesidad, la hiperglucemia y enfermedades metabólicas (Gramazio *et al.*, 2022). Esto ha conducido al desarrollo y síntesis de edulcorantes no nutritivos (ENN), mismos que poseen un mayor poder dulzor y un menor contenido calórico en comparación con los edulcorantes calóricos, como la sacarosa o el jarabe de maíz (García-Almeida *et al.*, 2013; Stephens-Camacho *et al.*, 2018). Existen dos tipos de ENN: los artificiales, que son sintetizados químicamente, como la sacarina, el aspartame y la sucralosa; y los de origen natural, como el esteviol y la taumatina, que son derivados de plantas y presentan una elevada

capacidad para conferir sabor dulce en contraste con el azúcar de mesa o sacarosa (Stephens-Camacho *et al.*, 2018). Desgraciadamente, el uso de edulcorantes artificiales se ha relacionado con el desarrollo de trastornos metabólicos y la síntesis de potentes precursores cancerígenos (Sharififar *et al.*, 2022). Por otra parte, las proteínas dulces son moléculas con alto poder endulzante, que constituyen un grupo interesante de edulcorantes naturales (Szwacka *et al.*, 2012; Neiers *et al.*, 2016) que pueden ser utilizados en la industria de bebidas carbonatadas, *snacks*, confitería, entre otros alimentos (Kant, 2005).

En la actualidad, se han identificado seis proteínas dulces aisladas de fuentes vegetales naturales: brazeína, taumatina, monelina, neoculina, mabinlina y pentadina (véase la tabla I), las cuales son mucho más dulces que la sacarosa y son extraídas de plantas que crecen en las selvas tropicales (Neiers *et al.*, 2016; Sharififar *et al.*, 2022). Estas plantas constan de alrededor de 50 a 200 aminoácidos y poseen un rango de peso molecular aproximado de 6,500 a 30,000 Da. (Szwacka *et al.*, 2012).

Tabla I. Características de diferentes proteínas dulces

Proteína dulce	Dulzura	Aminoácidos	Fuente natural	Distribución geográfica
Taumatina	2,000 x	207	<i>Thaumatococcus daniellii</i> Benth	África occidental
Monelina	3,000 x	44 (Cadena A) / 50 (Cadena B)	<i>Dioscoreophyllum cumminsii</i>	África occidental
Mabinlina	100 x	33 (Cadena A) / 72 (Cadena B)	<i>Capparis masaikai</i> Levi	China
Brazeína	2,000 x	54	<i>Pentadiplandra brazzeana</i> Baillon	África occidental
Pentadina	500 x	54	<i>Pentadiplandra brazzena</i> Baillon	África occidental
Neoculina	550 x	114	<i>Curculigo latifolia</i>	Malasia

Fuente: elaboración propia, con información de Szwacka *et al.* (2012) y Joseph *et al.* (2019).

Sin duda alguna, el alto poder edulcorante que poseen las proteínas dulces en conjunto con su estabilidad, son dos de las razones por las que dichas proteínas resultan sumamente interesantes para su posible aplicación industrial (Szwacka *et al.*, 2012).

De acuerdo con la FDA, en Estados Unidos y Japón, en conjunto con la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), la taumatina se ha comercializado desde la década de 1990 como edulcorante bajo en calorías y modificador del sabor con varios nombres comerciales como Talin® y San Sweet T-100®. Asimismo, el acuerdo sobre el uso de aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, publicado en 2012 en el Diario Oficial de la Federación, emitido por la Secretaría de Salud, reconoce a la taumatina como un edulcorante permitido en México. A continuación, se describirán las propiedades fisicoquímicas de las proteínas dulces.

1.1. Taumatina

La taumatina es una mezcla de dos proteínas (taumatina I y II) que son aisladas de la fruta de Katemfe (*Thaumatococcus daniellii* Benth) (DuBois y Prakash, 2012), la cual pertenece a la familia Marantaceae (Joseph *et al.*, 2019) y se encuentra comúnmente en las selvas tropicales de África occidental, desde Sierra Leona hasta la República Democrática del Congo (Joseph *et al.*, 2019). Posee un dulzor aproximado 2,000 veces mayor que el de la sacarosa (en peso) (DuBois y Prakash, 2012) y está conformada por 207 aminoácidos. En su estructura presenta ocho puentes disulfuro que le confieren estabilidad en medios ácidos (DuBois y Prakash, 2012; Joseph *et al.*, 2019). Su peso molecular es de 22 kDa (DuBois y Prakash, 2012). Actualmente, la taumatina es la única proteína dulce aprobada por la FDA y es comercializada bajo los nombres de Talin® y San Sweet T-100® (DuBois y Prakash, 2012; Sharififar *et al.*, 2022).

Una vez extraída, se presenta como un sólido con una solubilidad en agua del 60 % a 25 °C. Se ha reportado que es estable en polvo seco o en solución acuosa en un rango de pH de 3.0 a 6.0 (DuBois y Prakash, 2012). De acuerdo con Joseph-Jewel *et al.* (2019), la proteína se mantiene estable durante procesos térmicos

como la pasteurización, el enlatado, el horneado y el procesamiento a temperaturas ultraaltas en valores de pH inferiores a 5.0. Sin embargo, al calentar la proteína por encima de 70 °C en un pH de 7.0, existe una pérdida de dulzor (Joseph *et al.*, 2019), lo que reduce sus posibles aplicaciones en alimentos procesados térmicamente o en alimentos ácidos. La taumatina exhibe sabores amargos y similares al regaliz, así como un inicio marcadamente tardío y una persistencia de la dulzura muy pronunciada (DuBois y Prakash, 2012).

Estudios realizados por la FAO y la OMS afirman que la proteína dulce está libre de efectos tóxicos, mutagénicos, genotóxicos o teratogénicos; asimismo, no ha mostrado reacciones adversas en estudios con animales y humanos, por lo que ya ha sido aprobada por la FDA para su uso como aditivo alimentario (Joseph *et al.*, 2019; Sharififar *et al.*, 2022).

1.2. Monelina

La monelina es una proteína aislada de frutas u hojas de la planta *Dioscoreophyllum cumminsii* (Frag *et al.*, 2022), conocida como la baya de la serendipia, originaria de África occidental. La monelina tiene un peso molecular de 11.4 kDa (Frag *et al.*, 2022) y se compone de dos subunidades (A y B) unidas de forma no covalente; la cadena A contiene 44 residuos de aminoácidos y la cadena B, 50. Al desnaturalizar dicha unión ocurre una pérdida de dulzor (Sharififar *et al.*, 2022). El poder endulzante de la monelina es 3,000 veces mayor que la sacarosa, pero es menos dulce que la taumatina y la brazeína (Frag *et al.*, 2022). La sensación dulce de la proteína llega lentamente hacia los receptores y posee un sabor persistente. Sin embargo, se ha observado una pérdida significativa de dulzura al encontrarse en un pH inferior a 2.0 y superior a 9.0; por ello, el uso de la monelina está limitado debido a su baja estabilidad y alta propensión a la agregación en pH neutro (Frag *et al.*, 2022). En consecuencia, se han realizado modificaciones estructurales con la finalidad de mantener la estabilidad y mejorar moderadamente la resistencia en pH alcalino y temperaturas elevadas, aunque no lo suficiente para emplearse en procesos que requieran altas temperaturas (Frag *et al.*, 2022).

1.3. Mabinlina

La mabinlina es una proteína que se deriva de las semillas maduras de la planta china de *Capparis masai* kai Levi, comúnmente conocida como *mabinlang* (Sharififar *et al.*, 2022). Está formada por dos cadenas polipeptídicas A y B; la primera contiene 33 aminoácidos y la segunda, 72, las cuales están estrechamente unidas mediante una interacción no covalente. La mabinlina tiene cuatro isoformas (MBL I, II, III, IV) (Faray *et al.*, 2022); la forma II se considera la isoforma más dulce (400 veces más que la sacarosa en peso) (Sharififar *et al.*, 2022).

En comparación con las seis proteínas dulces caracterizadas, la mabinlina es la molécula que posee la mayor termoestabilidad, pues tolera hasta 80 °C por periodos superiores a una hora, además de presentar una alta resistencia a los ácidos (Sharififar *et al.*, 2022). Su estabilidad térmica difiere de la de otras proteínas de sabor dulce, lo cual se atribuye a la presencia de cuatro puentes disulfuro (Faray *et al.*, 2022). La mabinlina tiene un sabor astringente-dulce, lo que permite enmascarar el amargor de los compuestos vegetales; asimismo, es fácilmente soluble en agua (Sharififar *et al.*, 2022). En la actualidad, la mabinlina no se utiliza como edulcorante en la producción de alimentos ya que no ha sido aprobada por la FDA (Sharififar *et al.*, 2022).

1.4. Brazeína

La brazeína es la proteína aislada más pequeña (Faray *et al.*, 2022); se deriva del fruto de la planta trepadora *Pentadiplandra brazzeana* Baillon, originaria de África occidental (Sharififar *et al.*, 2022). Esta planta produce bayas globulares rojas de aproximadamente dos pulgadas de diámetro, que contienen de una a cinco semillas rodeadas por una gruesa capa de pulpa (Faray *et al.*, 2022). La brazeína se encuentra en la pulpa que rodea las semillas. Una vez extraída, se presenta como un sólido blanco con buena solubilidad en agua; además, es estable como polvo seco y en un amplio rango de pH, de 2.5 a 8.0 (DuBois y Prakash, 2012). Posee una masa molecular de 6.4 kDa y un punto isoeléctrico de 5. Es una proteína monomérica que consta de 54 residuos de aminoácidos con ocho cisteínas y cuatro enlaces disulfuro que le confieren la estabilidad térmica (Faray *et al.*, 2022).

Su sabor es similar al de la sacarosa y carece de regusto metálico, lo que reduce eficazmente el resabio de otros sustitutos del azúcar cuando se usan en combinación (Sharififar *et al.*, 2022). Sin embargo, la detección inicial del sabor es significativamente lenta (Sharififar *et al.*, 2022). La brazeína es 500 veces más dulce que la solución de sacarosa al 10 % y 2,000 veces más dulce que la solución de sacarosa al 2 % (Neiers *et al.*, 2021). Asimismo, presenta alta hidrosolubilidad y alta termoestabilidad, y es capaz de mantener su dulzor ante diferentes condiciones de temperatura y pH; dichas propiedades la convierten en una proteína altamente compatible con diferentes matrices alimentarias (Neiers *et al.*, 2016).

En consecuencia, la brazeína resulta ser una de las proteínas con mayor valor y potenciales aplicaciones industriales debido a su estabilidad, potencia de sabor y propiedades fisicoquímicas, entre otras. Sin embargo, actualmente no está aprobada por la FDA para ninguna aplicación en alimentos o bebidas (DuBois y Prakash, 2012; Faray *et al.*, 2022; Sharififar *et al.*, 2022).

1.5. Pentadina

La pentadina es una proteína que se obtiene de la misma planta de la que se extrae la brazeína (*Pentadiplandra brazzeana* Baillon), con la diferencia de que la pentadina se extrae del fruto deshidratado por calor, mientras que la brazeína se extrae del fruto fresco (Faray *et al.*, 2022). Tiene un peso molecular de 12 kDa y su intensidad de dulzura se estima 500 veces la de la sacarosa, con una similitud a la monelina (Faray *et al.*, 2022); asimismo, es soluble en agua (Kashani-Amin *et al.*, 2021; Sharififar *et al.*, 2022). Debido a su relación con la brazeína, la pentadina parece ser la forma reticulada no nativa de la brazeína, aunque difiere en su peso molecular (que es casi el doble). Sin embargo, su dulzor se reduce significativamente en comparación con el de la brazeína (Faus, 2000; Faray *et al.*, 2022). La estabilidad de la pentadina se debe principalmente a la presencia de ciertos aminoácidos como el ácido aspártico, el ácido glutámico, la tirosina, la lisina, la arginina y la prolina, en su mayoría. En consecuencia, esta proteína es altamente resistente a una temperatura de 100 °C por periodos de aproximadamente cinco horas

(Kashani-Amin *et al.*, 2021; Sharififar *et al.*, 2022). Del mismo modo, es capaz de conservar su sabor aun cuando se desnaturaliza químicamente, por lo que puede resultar más estable en comparación con otras proteínas dulces como la taumatina y la brazeína (Farag *et al.*, 2022).

1.6. Neoculina

La neoculina, también llamada curculina, se aísla de los frutos de *Curculigo latifolia* (Farag *et al.*, 2022). Se compone de 114 residuos de aminoácidos, posee un peso molecular de 12 kDa y un poder endulzante hasta 550 veces superior al de la sacarosa (Farag *et al.*, 2022; Sharififar *et al.*, 2022). Esta proteína tiene dos subunidades diferentes con dos puentes disulfuro que son necesarias para su actividad (Sharififar *et al.*, 2022); es decir, si dichas estructuras llegasen a desnaturalizarse, la proteína perdería su nivel de dulzor y su estabilidad. La neoculina resiste temperaturas de hasta 50 °C por periodos cortos de aproximadamente una hora; asimismo, es estable en un amplio rango de pH, de 3 a 11 (Farag *et al.*, 2022; Sharififar *et al.*, 2022). Aunque no ha sido aprobada en Estados Unidos, está reconocida como un aditivo alimentario seguro en Japón, por lo que se ha incluido en la lista de aditivos alimentarios permitidos por el Ministerio de Salud y Bienestar de ese país (Bahadur y Pal, 2020).

2. Proteínas y su efecto endulzante

Entre las cinco modalidades básicas de sabor (dulce, umami, amargo, salado y ácido), el dulce es uno de los principales determinantes en la elección de la dieta (Laffitte *et al.*, 2014). A principios de la década de los 2000, se descubrió que la detección del dulce está mediada por un solo receptor compuesto por dos subunidades: T1R2 y T1R3 (Laffitte *et al.*, 2014). Estas fungen como receptores específicos para la detección del sabor dulce con una acción amplia; es decir, son capaces de responder a todos los estímulos de sabor dulce producidos por moléculas como azúcares naturales (glucosa y sacarosa), aminoácidos dulces (como la glicina), edulcorantes artificiales (sacarina y

acesulfame) y proteínas de sabor dulce (Calderón, 2011; Puebla, 2011; Liu *et al.*, 2012; Laffitte *et al.*, 2014). Dichos receptores gustativos convierten la estructura química de una molécula dulce en una respuesta bioquímica que se propaga a la corteza cerebral, donde la actividad de las neuronas refleja la percepción cognitiva (Max y Meyerhof, 2008).

En la figura 1 se puede observar el modelo del receptor de sabor dulce y las subunidades T1R2 y T1R3. Ambos poseen un dominio Venus atrapamoscas (VFT) conectado a un dominio helicoidal transmembrana (TMD). El VFT se compone de dos lóbulos separados por una gran hendidura, en la que se unen la mayoría de los edulcorantes; asimismo, posee un dominio corto rico en cisteína, que conecta la depleción aguda de triptófano (ATD) con la característica del dominio transmembrana α -helicoidal (Laffitte *et al.*, 2014).

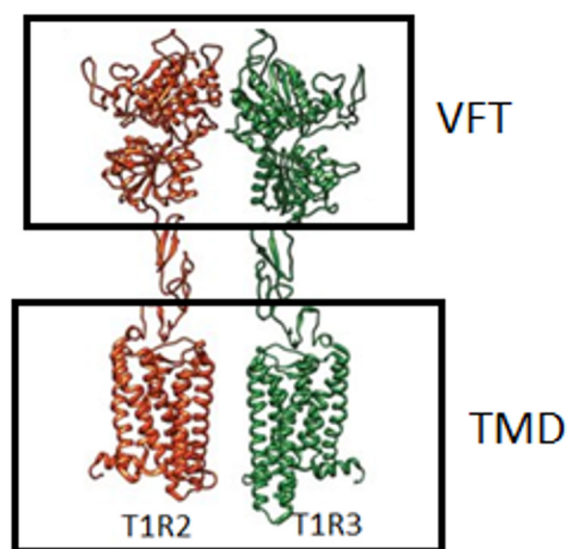


Figura 1.

Modelo del receptor de sabor dulce. Adaptada de Laffitte *et al.* (2014).

La activación del receptor del sabor dulce en las papilas gustativas induce una cascada de transducción intracelular que conduce a la despolarización de las células receptoras del gusto; esto genera un potencial de acción y da lugar a la liberación de trifosfato de adenosina (ATP) como transmisor para activar las aferentes gustativas (Laffitte *et al.*, 2014; Calderón, 2019). Experimentos realizados por Behrens-Maik (2011) demostraron que las proteínas dulces son capaces de activar los receptores T1R2 y T1R3, por lo que pueden ser percibidas por humanos, simios y monos (Liu *et al.*, 2012).

3. Producción biotecnológica de proteínas dulces

La producción de proteínas recombinantes surgió a principios de la década de 1980 con el desarrollo de herramientas de ingeniería genética. Esta tecnología representa una alternativa eficiente a la extracción de proteínas a partir de fuentes naturales, pues el aislamiento de proteínas, especialmente de fuentes vegetales, puede resultar costoso, complejo y prolongado. En este sentido, la expresión heteróloga proporciona una alternativa conveniente que permite la producción a gran escala de proteínas vegetales en diferentes organismos (Yesilirmak y Sayers, 2009; Karbalaeei *et al.*, 2020).

Las proteínas recombinantes han alcanzado un mercado sustancioso, con un valor de 1,654 millones de dólares en 2016. Entre los sistemas disponibles para realizar la expresión heteróloga, las levaduras se han utilizado para producir una amplia variedad de proteínas aplicadas a productos químicos, combustibles, alimentos y productos farmacéuticos; por ello, constituyen uno de los huéspedes más utilizados para la producción de proteínas recombinantes (Vieira Gomes *et al.*, 2018). Las técnicas de ingeniería genética se aplican en la biosíntesis de proteínas a gran escala para su uso en las industrias biofarmacéutica, alimentaria, de diagnóstico y médica. Sin embargo, es necesario emprender un trabajo extenso para abordar los desafíos técnicos en la producción microbiana de proteínas de sabor dulce a granel (Murasugi, 2010).

3.1. Sistemas de producción de proteínas dulces

La producción de alto nivel de proteínas a partir de huéspedes modificados proporciona una alternativa a la extracción de proteínas desde fuentes naturales, puesto que estas suelen ser limitadas y la concentración del producto deseado generalmente es baja; esto hace que su obtención sea muy costosa o, incluso, imposible. Además, la extracción puede conllevar el peligro de contaminación tóxica o infecciosa, dependiendo del origen natural de la proteína (Mattanovich *et al.*, 2012). La expresión heteróloga implica la identificación de genes y la transferencia de los fragmentos de ADN correspondientes a huéspedes distintos de la fuente original que son modificados genéticamente para la síntesis de las proteínas codificadas (Yesilirmak y Sayers, 2009).

Algunas proteínas recombinantes aprobadas hasta mediados de 2018 incluyen anticuerpos monoclonales, hormonas, enzimas, vacunas y una proteína dulce. Asimismo, los avances en el área de producción de proteínas recombinantes han cambiado, permitiendo la producción de tales proteínas a escala industrial (Porro *et al.*, 2005; Mattanovich *et al.*, 2012; Tripathi y Shrivastava, 2019). La producción de proteínas recombinantes se lleva a cabo mediante sistemas de expresión procarióticos y eucarióticos, tales como células de mamíferos, bacterias, levaduras, células de insectos y plantas transgénicas, que son capaces de generar estas proteínas tanto a escala de laboratorio como a gran escala (Joseph *et al.*, 2019; Tripathi y Shrivastava, 2019).

La brazeína se ha obtenido mediante diversos sistemas de expresión como *Escherichia coli*, *Lactococcus lactis*, *Pichia pastoris* y *Kluyveromyces lactis*. Sin embargo, la expresión en la bacteria *E. coli* dificultó la purificación; en la bacteria *L. lactis* se obtuvo un bajo rendimiento, mientras que en la levadura *P. pastoris* se requirió de un procedimiento de purificación más complejo (Hung *et al.*, 2019). Asimismo, la expresión de la taumatina se ha llevado a cabo en diferentes microorganismos como *E. coli*; no obstante, el rendimiento de la proteína

fue bajo y el producto obtenido no logró estimular al receptor de sabor dulce debido a la ausencia de modificaciones postraduccionales y a un mal plegamiento. Se logró obtener un rendimiento de 100 mg/L de taumatina a partir de la levadura *Hansenula polymorpha*, aunque la levadura *P. pastoris* también demostró capacidad para producir altas concentraciones de brazeína (Joseph *et al.*, 2019). Así, para la selección de un sistema de expresión se deben conocer las propiedades estructurales necesarias para que la proteína ejerza su función biológica, puesto que las modificaciones postraduccionales —como la glicosilación, la formación de enlaces disulfuro, la fosforilación o el procesamiento proteolítico— están involucradas en los procesos de plegamiento, estabilidad y función correcta de la proteína. En consecuencia, generalmente se eligen sistemas de expresión eucarióticos, ya que las bacterias actualmente no pueden incorporar tales modificaciones (Porro *et al.*, 2005; Overton, 2014; Neiers *et al.*, 2016; Tripathi y Shrivastava, 2019).

Las levaduras son organismos capaces de realizar modificaciones postraduccionales (Tripathi y Shrivastava, 2019), así como características eucarióticas que incluyen una vía secretora que conduce al correcto procesamiento de proteínas y modificaciones postraduccionales (Mattanovich *et al.*, 2012). La existencia de sistemas de expresión eucariotas, como el tabaco, proporciona un sistema económico. Lamphear-Barry *et al.* (2005) obtuvieron una alta expresión de brazeína, con acumulación de hasta 4 % de proteína soluble total en semilla de maíz, con una alta intensidad de dulzura (hasta 1,200 veces la de la sacarosa en peso). Sin embargo, el rendimiento es mucho menor en comparación al obtenido en las levaduras, en especial *P. pastoris*.

En la tabla II se pueden observar algunos sistemas de expresión que han sido utilizados para la obtención de las proteínas dulces taumatina y brazeína; además, se observa que el sistema de expresión, en conjunto con las condiciones de crecimiento y expresión (nutrimentales o ambientales), repercuten en el rendimiento de la proteína obtenida; por lo tanto, es fundamental evaluar cada una de las condiciones de cultivo para la expresión de cada proteína recombinante y el desarrollo de bioprocesos efectivos (Tripathi y Shrivastava, 2019).

Tabla II. Expresión heteróloga de proteínas dulces en diversos sistemas

Proteína	Sistema de expresión	Referencias
Taumatina	<i>Pichia pastoris</i>	Joseph <i>et al.</i> (2022)
	<i>Bacillus subtilis</i>	Illingworth <i>et al.</i> (1988)
	<i>Escherichia coli</i>	Daniell <i>et al.</i> (2000)
Brazeína	<i>Bacillus licheniformis</i>	Hung <i>et al.</i> (2019)
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	Jo <i>et al.</i> (2013)
	<i>Pichia pastoris</i>	Neiers <i>et al.</i> (2016)

Fuente: elaboración propia.

3.2. Bioprocesos para la producción de proteínas dulces
Existen varios parámetros de cultivo como la composición del medio, el pH, la agitación, la aireación, la temperatura, la densidad celular, la concentración de inductores, el tiempo de inducción, así como las estrategias de alimentación, los cuales pueden afectar el nivel de expresión de la proteína según los sistemas de expresión (Tripathi y Shrivastava, 2019). Debido a que los rendimientos se correlacionan en gran medida con la densidad celular, la fermentación es esencial para las proteínas secretadas, y puede realizarse en pequeña escala (en matraz) o en escala industrial (biorreactor) en algunos casos. Sin embargo, el cambio de la expresión en matraces a fermentadores ocasiona un aumento en el rendimiento, que puede ser hasta diez veces más alto que en los matraces (Li *et al.*, 2007). Lo anterior se debe a que

el diseño de los biorreactores asegura la homogeneidad entre los componentes del sistema (medio de cultivo, agente antiespumante, aireación y soluciones amortiguadoras), lo que genera condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y la obtención del producto deseado (Ruíz-Leza *et al.*, 2007).
No obstante, las condiciones óptimas de expresión dependerán del huésped y la proteína a expresar. Por ejemplo, en la tabla III se pueden observar las condiciones de cultivo bajo las cuales se ha llevado a cabo la expresión heteróloga de dos proteínas dulces en diferentes sistemas de expresión (bacterias y levaduras); así como el rendimiento que se ha obtenido, recordando que este depende de factores como la composición del medio de cultivo, el tipo de organismo, factores no nutricionales y ambientales.

Tabla III. Obtención de proteínas dulces mediante expresión heteróloga bajo diferentes condiciones de expresión

Proteína	Rendimiento	Sistema de expresión	Condiciones de cultivo	Referencias
Taumatina	67.43 mg/L	<i>Pichia pastoris</i>	Medio BMGY, pH 6.0	Joseph <i>et al.</i> (2022)
	1 mg/L	<i>Bacillus subtilis</i>	4 °C	Illingworth <i>et al.</i> (1988)
	40 mg/L	<i>Escherichia coli</i>	30 °C	Daniell <i>et al.</i> (2000)
Brazeína	57 mg/L	<i>Bacillus licheniformis</i>	Tiempo de expresión: 36 horas	Hung <i>et al.</i> (2019)
	104 mg/L	<i>Kluyveromyces lactis</i>	pH 5.5, 30 °C	Jo <i>et al.</i> (2013)
	345 mg/L	<i>Pichia pastoris</i>	pH 6.0, 29 °C, tiempo de expresión: 96 horas	Neiers <i>et al.</i> (2016)

Fuente: elaboración propia.

4. Aplicaciones potenciales en alimentos

Las posibles aplicaciones alimentarias de las proteínas dulces dependen, en gran medida, de las características fisicoquímicas que presentan, como la estabilidad térmica y la estabilidad ante diferentes valores de pH.

La taumatina actualmente es utilizada como potenciador del sabor, endulzante natural y para enmascarar sabores. Se aplica en productos farmacéuticos para ocultar el sabor amargo de jarabes y soluciones; asimismo, su aplicación puede extenderse a bebidas carbonatadas (Sharififar *et al.*, 2022), productos lácteos fermentados, golosinas en gelatina, helados, productos de cacao y chocolate, productos de confitería, dulces para refrescar el aliento, chicles, edulcorantes de mesa (en forma líquida, en polvo o en tabletas), bebidas saborizadas, *snacks* a base de patata, cereal, harina o almidón, así como complementos alimenticios suministrados en forma sólida, con excepción de los complementos alimenticios para lactantes y niños pequeños (Younes *et al.*, 2021).

Por otro lado, la isoforma II de la mabinlina posee un sabor astringente-dulce, por lo que puede emplearse para enmascarar el amargor de compuestos vegetales (Sharififar *et al.*, 2022). Además, puede utilizarse en alimentos sometidos a procesamiento térmico, como lácteos, alimentos enlatados y preparados farmacéuticos, debido a su alta termoestabilidad.

Otra de las proteínas con múltiples aplicaciones es la brazeína (código de patente: U5326580A). De acuerdo con Hellekant *et al.* (1994), puede emplearse como endulzante en productos como café, té, bebidas carbonatadas, o bien combinarse con otro edulcorante. Además, es posible expresar a la brazeína en embriones de semillas de maíz, lo que abre la posibilidad de

producir cereales preendulzados sin azúcares añadidos (Sharififar *et al.*, 2022).

Debido a que la pentadina es una proteína con características fisicoquímicas similares a la brazeína, se puede deducir que sus aplicaciones pueden ser las mismas. La neoculina tiene una actividad modificadora del sabor, ya que, tras el consumo de soluciones ácidas, se presentará un sabor dulce. Esto permite su uso como agente enmascarador en preparados farmacéuticos (como jarabes, soluciones o emulsiones) (Sharififar *et al.*, 2022). De igual manera, la neoculina ha sido considerada como posible agente endulzante por la empresa The Coca-Cola Company®, de acuerdo con la patente EP1971228A1 (Prakash *et al.*, 2008).

Sin embargo, la monelina posee una limitada aplicación en alimentos procesados debido a la pérdida significativa de dulzura ante diferentes valores de pH (Sharififar *et al.*, 2022). Aunque se han realizado modificaciones estructurales para mantener su estabilidad y resistencia en diferentes valores de pH y temperaturas elevadas, aún no se ha logrado mantener dicha estabilidad (Farag *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

En conclusión, el uso de proteínas dulces como edulcorantes naturales representa una opción viable para la industria. En comparación con la sacarosa, presentan un alto poder endulzante incluso a bajas concentraciones, mantienen su estabilidad fisicoquímica, aportan menos calorías en comparación con la sacarosa y no favorecen la aparición de caries dental, entre otros beneficios.

De igual manera, a lo largo de este artículo de revisión se demostró que es posible obtener proteínas dulces mediante técnicas de bioingeniería, lo que permite incrementar el rendimiento a través del uso de biorreactores. No obstante, se requieren más estudios sobre las condiciones de expresión óptimas, considerando tanto el sistema de expresión como los factores ambientales y nutricionales. En este sentido, resulta necesario emplear modelos de optimización que sean capaces de mejorar el rendimiento obtenido, tomando en consideración los factores antes mencionados para la producción en gran escala de endulzantes proteicos.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por financiar sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Daniell, S., Mellits, K. H., Faus, I. y Connerton, I. (2000). Refolding the sweet-tasting protein thaumatin II from insoluble inclusion bodies synthesised in *Escherichia coli*. *Food Chemistry*, 71(1), 105-110. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00151-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00151-5)
- DuBois, G. E. y Prakash, I. (2012). Non-caloric sweeteners, sweetness modulators, and sweetener enhancers. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 353-380. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101236>
- Farag, M. A., Rezk, Mona. M., Hamdi Elashal, M., El-Araby, M., Khalifa, S. A. M. y El-Seedi, H. R. (2022). An updated multifaceted overview of sweet proteins and dipeptides as sugar substitutes; the chemistry, health benefits, gut interactions, and safety. *Food Research International*, 162, 111853. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111853>
- Faus, I. (2000). Recent developments in the characterization and biotechnological production of sweet-tasting proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(2), 145-151. <https://doi.org/10.1007/s002530050001>
- García-Almeida, J. M., Casado Fdez, G. M. y García Alemán, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes: aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 17-31.
- Gomes, A., Byregowda, S., B M, V. y Vinayagamurthy, B. (2016). An overview of heterologous expression host systems for the production of recombinant proteins. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 4, 346-356. <https://doi.org/10.14737/journal.aavs/2016/4.7.346.356>
- Gramazio, S., Trauth, J., Bezold, F., Essen, L.-O., Taxis, C. y Spadaccini, R. (2022). Light-induced fermenter production of derivatives of the sweet protein monellin is maximized in prestationary *Saccharomyces cerevisiae* cultures. *Biotechnology Journal*, 17(8), 2100676. <https://doi.org/10.1002/biot.202100676>
- Hellekant, B. G. y Ming, D. (1994). *Brazzein sweetener* (United States Patent N.º US5326580A). <https://patents.google.com/patent/US5326580A/en>

- Hung, C.-Y., Cheng, L. H. y Yeh, C. M. (2019). Functional expression of recombinant sweet-tasting protein brazzein by *Escherichia coli* and *Bacillus licheniformis*. *Food Biotechnology*, 33(3), 251-271. <https://doi.org/10.1080/08905436.2019.1618323>
- Illingworth, C., Larson, G. y Hellekant, G. (1988). Secretion of the sweet-tasting plant protein thaumatin by *Bacillus subtilis*. *Biotechnology Letters*, 10(8), 587-592. <https://doi.org/10.1007/BF01027135>
- Jo, H. J., Noh, J. S. y Kong, K. H. (2013). Efficient secretory expression of the sweet-tasting protein brazzein in the yeast *Kluyveromyces lactis*. *Protein Expression and Purification*, 90(2), 84-89. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2013.05.001>
- Joseph, J. A., Akkermans, S., Nimmegeers, P. y Van Impe, J. F. M. (2019). Bioproduction of the recombinant sweet protein thaumatin: current state of the art and perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00695>
- Joseph, J. A., Akkermans, S. y Van Impe, J. F. M. (2022). Effects of temperature and pH on recombinant thaumatin II production by *Pichia pastoris*. *Foods*, 11(10), article 10. <https://doi.org/10.3390/foods11101438>
- Kant, R. (2005). Sweet proteins-Potential replacement for artificial low calorie sweeteners. *Nutrition Journal*, 4(1), 5. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-4-5>
- Karbalaee, M., Rezaee, S. A. y Farsiani, H. (2020). *Pichia pastoris*: a highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. *Journal of Cellular Physiology*, 235(9), 5867-5881. <https://doi.org/10.1002/jcp.29583>
- Kashani-Amin, E., Faraji, H., Nouriyengejeh, S. y Ebrahim-Habibi, A. (2021). Structure-sweetness relationship of sweet proteins: a systematic review on «sweet protein» studies as a sub-group of «sweetener» investigations. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 76(4), 175-190. <https://doi.org/10.3103/S0096392521440012>
- Li, P., Anumanthan, A., Gao, X., Ilangoan, K., Suzara, V., Duzgunes, N. y Renu-gopalakrishnan, V. (2007). Expression of recombinant proteins in *Pichia pastoris*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 142, 105-124. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-0003-x>
- Murasugi, A. (2010). Secretory expression of human protein in the Yeast *Pichia pastoris* by controlled fermentor culture. *Recent Patents on Biotechnology*, 4(2), 153-166. <https://doi.org/10.2174/187220810791110679>
- Neiers, F., Belloir, C., Poirier, N., Naumer, C., Krohn, M. y Briand, L. (2021). Comparison of different signal peptides for the efficient secretion of the sweet-tasting plant protein brazzein in *Pichia pastoris*. *Life*, 11(1), article 1. <https://doi.org/10.3390/life11010046>
- Neiers, F., Naumer, C., Krohn, M. y Briand, L. (2016). The recent development of a sweet-tasting brazzein and its potential industrial applications, 1-20. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26478-3_2-1
- Prakash, I., Dubois, G. E., Jella, P., King, G. A., Miguel, R. I. S., Sepcic, K. H., Weerasinghe, D. K. y White, N. R. (2008). *Natural high-potency sweetener compositions with improved temporal profile and/or flavor profile, methods for their formulation, and uses* (European Union Patent N.o EP1971228A1). <https://patents.google.com/patent/EP1971228A1/en>
- Rega, M. F., Di Monaco, R., Leone, S., Donnarumma, F., Spadaccini, R., Cavella, S. y Picone, D. (2015). Design of sweet protein based sweeteners: hints from structure-function relationships. *Food Chemistry*, 173, 1179-1186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.151>
- Sharififar, F., Ashrafzadeh, A. y Khanaman, M. (2022). A review of natural peptide

- sweeteners. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 28. <https://doi.org/10.1007/s10989-022-10464-4>
- Stephens-Camacho, N., Valdez-Hurtado, S., Zavala, G. e Ibarra, L. (2018). Consumo de edulcorantes no nutritivos: efectos a nivel celular y metabólico. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 20, 185-202. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v20n2a06>
- Szwacka, M., Burza, W., Zawirska-Wojtasiak, R., Gośliński, M., Twardowska, A., Gajc-Wolska, J., Kosieradzka, I. y Kielkiewicz, M. (2012). Genetically modified crops expressing 35S-thaumatococcus II transgene: sensory properties and food safety aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00178.x>
- Tripathi, N. K. y Shrivastava, A. (2019). Recent developments in bioprocessing of recombinant proteins: expression hosts and process development. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00420>
- Vieira Gomes, A. M., Souza Carmo, T., Silva Carvalho, L., Mendonça Bahia, F. y Parachin, N. S. (2018). Comparison of Yeasts as Hosts for Recombinant Protein Production. *Microorganisms*, 6(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6020038>
- Yesilirmak, F. y Sayers, Z. (2009). Heterologous expression of plant genes. *International Journal of Plant Genomics*, 2009, 296482. <https://doi.org/10.1155/2009/296482>
- Younes, M., Aquilina, G., Castle, L., Engel, K., Fowler, P., Frutos Fernandez, M. J., Fürst, P., Gürtler, R., Gundert-Remy, U., Husøy, T., Manco, M., Mennes, W., Passamonti, S., Moldeus, P., Shah, R., Waalkens-Berendsen, I., Wölfe, D., Wright, M., Batke, M. y Boon, P. (2021). Re-evaluation of thaumatin (E 957) as food additive. *EFSA Journal*, 19(11), 1-72. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6884>

El papel de los probióticos en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas

Laura Karen Bernal Pérez^{1*}, Laura Marissa Islas Romero² y Ana Eugenia Ortega Regules²

^{*}Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

¹Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental

²Departamento de Ciencias de la Salud

Correos electrónicos: laura.bernalpz@udlap.mx • ana.ortega@udlap.mx

Bernal Pérez, L. K., Islas Romero, L. M. y Ortega Regules, A. E. (2024). El papel de los probióticos en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas. *TSIA*, 18.



RESUMEN

Las bebidas probióticas no lácteas (BPNL) han surgido como una opción de alimento funcional para personas con restricciones alimentarias. El sustrato y el probiótico seleccionados son los factores principales que dan lugar a las características deseables e indeseables en la bebida terminada. El objetivo de esta revisión es recopilar información sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y los beneficios a la salud reportados en bebidas probióticas fermentadas a partir de sustratos no lácteos. Debido a la fermentación, el pH, la acidez titulable, la viscosidad, los azúcares y los ácidos orgánicos son modificados, lo que a su vez influye en las características sensoriales de la bebida. Además, la fermentación podría generar compuestos bioactivos con beneficios para la salud. Sin embargo, algunos retos en la formulación de BPNL son la viabilidad de los probióticos, el uso de nuevas cepas como cultivos iniciadores y el uso de aditivos para mejorar su aceptabilidad por el consumidor.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas, levaduras, características sensoriales, salud.

ABSTRACT

Non-dairy probiotic beverages (BPNL) have emerged as a suitable functional food option for people with food restrictions. The substrate and probiotic used as starter culture in BPNL production may lead to desired and non-desired characteristics. The objective of this revision article is to gather information about physicochemical and sensorial characteristics as well as health benefits reported in fermented non-dairy probiotic beverages. Due to fermentation, pH, titratable acidity, viscosity, sugar content, and organic acid content are modified. These parameters will also affect BPNL sensorial characteristics. Besides, fermentation could lead to bioactive components with health benefits. However, some BPNL formulation challenges are the probiotics viability, the use of new strains as started cultures and the use of food additives to improve BPNL consumer acceptability.

Keywords: lactic-acid bacteria, yeasts, sensorial attributes, health.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha observado un cambio en las tendencias de consumo de alimentos. Los consumidores son cada vez más conscientes del impacto de la comida en su bienestar. La decisión de compra de alimentos ya no se basa únicamente en la aceptabilidad sensorial, sino también en el aporte nutricional e incluso en la posibilidad de que el alimento tenga un efecto terapéutico en la prevención y tratamiento de enfermedades (Kokwar *et al.*, 2022). En este contexto, se ha registrado un crecimiento sostenido en el desarrollo de alimentos funcionales, entre los que se encuentran los probióticos.

De acuerdo con la FAO (2001), los probióticos son microorganismos vivos que, en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del consumidor. Para que una cepa sea considerada probiótica debe ser identificada, ser capaz de colonizar el intestino, no ser patógena, ser resistente a pH ácido y a sales biliares y tener la capacidad de crecer a 37 °C (Di Cagno *et al.*, 2020). Se ha establecido que el consumo de probióticos en una concentración mínima de 1×10^7 /mL o g (equivalente a 7 log UFC/mL o g) equilibra la microbiota intestinal y genera beneficios en la salud gastrointestinal, la respuesta inmune y la salud metabólica (Ignat *et al.*, 2020).

Dentro de la categoría de alimentos probióticos, los productos fermentados son los más populares. La fermentación ofrece ventajas como el incremento de la vida de anaquel de la materia prima, el desarrollo de características organolépticas únicas y la mejora de la calidad nutricional de los alimentos. En este sentido, las bebidas probióticas fermentadas son una opción práctica, rápida y de fácil consumo. En particular, las bebidas lácteas fermentadas han sido la opción por excelencia al tener alta aceptabilidad por los consumidores; sin embargo, el incremento de la población con intolerancias alimentarias a lácteos (caseína, β -lactoglobulina y lactosa), así como problemas metabólicos (dislipidemias, diabetes y obesidad) y el crecimiento de dietas vegetarianas y veganas, han impulsado el desarrollo de alternativas de BPNL (Lopusiewicz *et al.*, 2021). Cuando se emplean matrices no lácteas para la fermentación de bebidas, la viabilidad de los probióticos puede ser más difícil de alcanzar en comparación con la leche, puesto que algunos sustratos para la fermentación —como proteínas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas— pueden estar limitados (Cunha Júnior *et al.*, 2022). A pesar de ello, no debe perderse de vista que los sistemas no lácteos contienen otros nutrientes como fibra

dietética y compuestos fenólicos (TPC), que pueden mejorar la actividad y crecimiento de los probióticos (Valero-Cases *et al.*, 2020). El efecto de la fermentación ácido-láctica sobre las características sensoriales y fisicoquímicas depende tanto de la matriz vegetal como de la cepa utilizada, pudiendo generar atributos deseables o indeseables (Lopusiewicz *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2022).

El objetivo de este artículo de revisión es recopilar los estudios más recientes sobre el uso de microorganismos y matrices alimentarias no lácteas en el desarrollo de bebidas probióticas, con énfasis en los efectos que producen los microorganismos en las características fisicoquímicas y sensoriales del producto terminado, así como los beneficios en la salud generados por su consumo. Por último, se mencionarán algunos retos y oportunidades identificados en investigaciones recientes en el desarrollo de BPNL.

1. Probióticos usados como cultivos iniciadores en bebidas de origen vegetal

Entre los probióticos más utilizados en la fermentación de bebidas se encuentran bacterias y levaduras. Las bacterias de los géneros más utilizados son *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactocaseibacillus* (*L. paracasei*, *L. rhamnosus* y *L. casei*) y *Lactiplantibacillus plantarum*. Estas bacterias comparten propiedades metabólicas y fisiológicas, como ser Gram positivas, no esporulantes y capaces de fermentar hidratos de carbono en ácido láctico (Wang *et al.*, 2022).

Por su parte, las levaduras probióticas se caracterizan por ser capaces de neutralizar enterotoxinas, resistir antibióticos y tener bajo riesgo de generar compuestos antagónicos (Wang *et al.*, 2022). Hasta el momento, *Saccharomyces cerevisiae* es la única cepa regulada y vendida de forma comercial (Di Cagno *et al.*, 2020). La producción de etanol suele ser una preocupación en el uso de levaduras; no obstante, se han reportado como cultivos iniciadores de BPNL, tanto de forma independiente como en cocultivos con bacterias ácido-lácticas (BAL), donde el contenido de etanol está por debajo del nivel establecido para catalogarse como bebida no alcohólica (Gerardi *et al.*, 2019; Di Cagno *et al.*, 2020; Oh *et al.*, 2020; Romero-Espinoza *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2022).

Asimismo, se ha estudiado el uso de cocultivos compuestos por levaduras y BAL. Se ha reportado que estos microorganismos podrían generar sinergia en la fermentación de la bebida e incrementar la viabilidad de los probióticos durante

su almacenamiento. Esto se debe, en parte, a que las levaduras otorgan factores de crecimiento como vitaminas (folatos), aminoácidos con actividad biológica, β -glucano y carotenoides, que favorecen la proliferación de BAL (Menezes *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2022). Por otro lado, al ser usados en conjunto, se reduce la producción de metabolitos indeseados que, en exceso, podrían incrementar el estrés oxidativo del medio y limitar la supervivencia de los probióticos durante su almacenamiento. Los cultivos individuales de BAL tienden a producir ácido láctico en exceso, mientras que las levaduras pueden producir etanol en porcentajes superiores a los permitidos para una bebida no alcohólica. En cambio, cuando las BAL y levaduras son empleados como cocultivos, compiten por los azúcares fermentables disponibles en el medio, lo que reduce la producción de ambos metabolitos (Ferreira *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022). Sin embargo, no todos los cocultivos han sido sinérgicos, por lo que el efecto de cocultivos debe ser analizado en cada matriz alimentaria (Menezes *et al.*, 2018).

De forma general, la preparación de BPNL coincide en ciertos pasos, independientemente de la materia prima utilizada (figura 1). En primer lugar, es necesario seleccionar, lavar y desinfectar la materia prima, seguido de un proceso de molien-

da. Después, la materia prima es diluida en agua y se filtra. En esta etapa pueden añadirse algunos ingredientes para favorecer la fermentación, la estabilidad de los probióticos o el sabor (fructooligosacáridos, inulina, azúcar, canela o *buffers*). Luego, la mezcla tiene un tratamiento térmico para asegurar la inocuidad del producto, ya sea mediante pasteurización o esterilización, las condiciones del tratamiento térmico dependen en gran medida de la materia prima utilizada y de los compuestos que quieran protegerse de la degradación térmica. Tras enfriarse, la bebida es inoculada con la cepa de probiótico o cocultivo iniciador, en una concentración de alrededor de 7 log UFC/mL. La fermentación ocurrirá entonces de forma aerobia o anaerobia sin agitación a una temperatura cercana a los 37 °C. El tiempo de fermentación depende de la facilidad de los microorganismos para metabolizar los hidratos de carbono disponibles y disminuir el pH por debajo de 4.5. Por último, la bebida se almacena a 4 °C. El éxito de fermentación se determina por la capacidad de alcanzar un pH menor a 4.5 en un máximo de 24 horas, así como por la obtención de un producto de buena aceptación sensorial y una viabilidad de probióticos de al menos 7 log UFC/mL al momento de consumo (Palencia-Argel *et al.*, 2022).

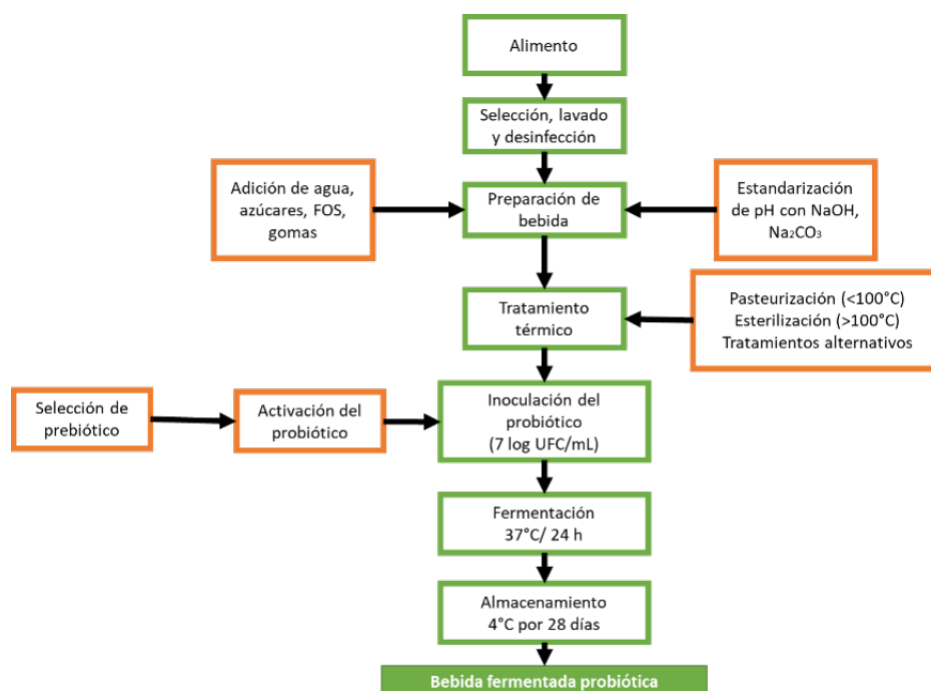


Figura 1.

Fuente: elaboración propia, adaptada de Palencia-Argel *et al.* (2022).

1.1. Frutos y verduras

Las frutas son ricas en hidratos de carbono (10-20 %) y en su mayoría son azúcares fermentables (> 5 %) como glucosa, sacarosa y fructosa. También tienen una alta cantidad de agua (81-90 %), así como buen aporte de vitamina A y C, y de compuestos bioactivos (carotenoides y antocianinas), que sirven como fuente de carbono, energía y factores de crecimiento necesarios para la supervivencia de los probióticos durante la fermentación. Los frutos tienen como ventajas el tener sabores agradables y dulces, que durante la fermenta-

ción producen diferentes características sensoriales y fisicoquímicas que, en general, favorecen su aceptación (Maldonado *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2021). En diferentes investigaciones se ha fermentado coco con cepas de *L. plantarum* (Prado *et al.*, 2015), *L. casei* (Cunha Júnior *et al.*, 2022) y *L. acidophilus* (Chavan *et al.*, 2018). Los frutos rojos (mora, arándano, granada, ciruela y açai), se han fermentado con *Pichia kudriavzevii* en combinación con *Wickerhamomyces subpelliculosus* (Di Cagno *et al.*, 2020); con *L. casei* (tabla 1) (Bernal-Castro *et al.*, 2019; Cheng *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021).

Tabla 1. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de frutas, verduras y hojas

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Açaí	35 % (p/v)	40 g/L FOS+10 g/L sacarosa	<i>L. casei</i> NRRL B- 442	Sin pasteurizar	28 °C	22 h	-	9	9.7	4.5	0.12	Freitas <i>et al.</i> (2021)
Agua de coco	100 %	2 % de sacarosa, 0.1 % de extracto de levadura y 3 % de proteína de soya	<i>L. plantarum</i> AC-1	Vapor durante 15 minutos	37 °C	10 h	Anaerobiosis	6	9.1	4	0.66	Prado <i>et al.</i> (2015)
Brote de bambú y jujuba	4:6 (jujuba: bambú)	-	<i>L. plantarum</i>	105 °C durante 15 minutos	37 °C	14 h	-	7	8.9	3.42	0.14	Zhao <i>et al.</i> (2021)
Cereza coralina	50 % (p/p) b.h.	-	<i>P. kudriavzevii</i> DCNa1 y <i>W. subpelliculosus</i> DFNb6	HHP ^d 6,000 bar a 5 °C durante 180 segundos	30 °C	48 h	Agitación a 200 rpm	6	8.01	2.75	0.13	Di Cagno <i>et al.</i> (2019)
Cereza de Santa Lucía	16 % (p/v)	-	<i>L. plantarum</i> FG69 y <i>S. cerevisiae</i> Li180-7	90 °C durante un minuto	25 °C	20 d	-	6	8.8	7.2	-	Gerardi <i>et al.</i> (2019)
Edamames	10 % p/v	-	<i>S. thermophilus</i>	75 °C durante 15 segundos	37 °C	24 h	-	6	8.22	4.8	0.2	Battistini <i>et al.</i> (2018)
Fresa, zarzamora y papaya	35 % (v/v)	1 % de inulina	<i>L. casei</i>	120 °C a 15 psi durante 15 minutos	37 °C	10 h	-	7.03	7.6	3.32	0.52*	Bernal-Castro <i>et al.</i> (2019)
Fruto de pan	7 %	5 % de azúcar	<i>L. acidophilus</i> y <i>L. plantarum</i>	121 °C durante 15 minutos	30 °C	48 h	-	5.95	7.96	3.69	-	Gao <i>et al.</i> (2019)

Tabla I. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de frutas, verduras y hojas (continuación)

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Granada	NE	NaOH 4 N para ajustar pH a 3.5	<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	80 °C durante 5 minutos	30 °C	24 h	-	11.42	10.51	3.5	0.12	Mantzourani et al. (2019)
Macroalgas	30 g/L = 3 % (p/v)	1 % de (w/w) β-glucanasa y β-galactosidasa	<i>S. boulardii</i>	120 °C durante 15 minutos	32 °C	96 h	Agitación a 100 r/min	6.2	8.4	4.72	0.96	Trung et al. (2021)
Maracuyá	16.60 %	3 M NaOH para ajustar pH de 5.6	<i>L. plantarum</i> y <i>L. paracasei</i>	80 °C durante 5 minutos	37 °C	18 h	-	6	9	3.96	-	Fonseca et al. (2022)
Mora azul	5 % (v/v)	1.5 % de glucosa; ajuste de pH a 6.2 con Na ₂ CO ₃	<i>L. rhamnosus</i> GG y <i>L. plantarum</i> -1	90 °C durante 10 minutos	37 °C	12 h	-	7.5	11.19	3.8	4.65	Yan et al. (2019)
Mora azul	50 % (v/v)	ajuste de pH con Na ₂ CO ₃ al 10 % (w/v)	<i>L. plantarum</i>	85 °C durante 20 minutos	37 °C	48 h	-	7.2	8.4	3	0.391	Wu et al. (2021)
Piña	100 % jugo de piña comercial	4N de NaOH para ajustar pH inicial a 6.7 y fructooligosacárido (Raftaline) al 1 %	<i>L. plantarum</i>	-	37 °C	24 h	Anaerobiosis	6	8	3.9	-	Nguyen et al. (2019)
Pulpa de coco	25 % (p/v)	2.5 % FOS, 0.5 % pectina y 5 % azúcar	<i>L. casei</i>	80 °C durante 10 minutos	37 °C	12 h	Anaerobiosis	6.5	9.2	4.14	0.24	Cunha Júnior et al. (2022)
Puré de mora azul	44 % (p/v)	-	<i>L. casei</i>	80 °C durante 15 minutos	37 °C	42 h	-	7	7	3.24	-	Cheng et al. (2020)
Té verde	5 % (p/p)	0.5 % de glucosa y 0.06 % de extracto de levadura	<i>S. boulardii</i> CNCM I-745 y <i>L. plantarum</i> 299V	121 °C durante 15 minutos	30 °C	48 h	-	7	8.5	4.7	-	Wang et al. (2022)
Tomate	5 %	-	<i>L. plantarum</i>	121 °C durante 15 minutos	37 °C	24 h	-	7	9.78	3.39	0.95	Oh et al. (2020)
Verdolaga	-	-	<i>L. kunkeei</i>	Filtros de 0.22 μm	30 °C	36 h	-	7	8	4.8	-	Di Cagno et al. (2019)

Fuente: elaboración propia.
Nota: ^atemperatura, ^btiempo, ^cácido láctico y ^dhigh hydrostatic pressure.

Algunos frutos tropicales y exóticos han sido utilizados para la fermentación de BPNL, ya que este proceso disminuye la astringencia, aumenta la vida de anaquel y diversifica su consumo (Gerardi *et al.*, 2019). Algunos ejemplos son el dátil chino fermentado con *L. plantarum*; maracuyá con *L. plantarum* y *L. paracasei*; piña con *L. plantarum*; fruto de pan con *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. plantarum*; y la cereza de Santa Lucía con *L. plantarum* y *S. cerevisiae* (Gao *et al.*, 2019; Gerardi *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2022).

No obstante, ciertos frutos no son aptos para la fermentación probiótica. En un estudio realizado por Maldonado *et al.* (2017) se observó inhibición de crecimiento de *L. casei*, *Streptococcus thermophilus* y *L. bulgaricus* tras 72 horas de fermentación con carambolo, mientras que en pitaya se obtuvo un contenido de 7×10^4 UFC/mL de BAL, valor inferior al que fue inoculado (1×10^6 UFC/mL). Los autores atribuyeron este cambio a la presencia de compuestos antimicrobianos (flavonoides, glicósidos, alcaloides, saponinos y esteroides) en el carambolo, y a la posible deficiencia de nutrientes esenciales para el metabolismo de los probióticos en la pitaya (Das *et al.*, 2013). El efecto antibacteriano también se ha reportado en frutos como granada, limón y arándano, en los que se redujo la carga inicial de *L. plantarum* debido a su alto contenido de fenoles, lo que pone en riesgo el efecto probiótico de la bebida (Mantzourani *et al.*, 2019).

Por otra parte, las verduras han sido poco empleadas como sustrato para la fermentación de BPNL. Esto se debe a que tienen un bajo aporte de proteína (< 2 %) y lípidos (< 0.5 %), así como una menor cantidad de hidratos de carbono en comparación con los frutos (~10 %); además, estos últimos son en su mayoría complejos, por lo que los microorganismos empleados en la fermentación deben contar con enzimas hidrolíticas para metabolizarlos. Como ventaja, las verduras aportan vitaminas (C, A, B9 y B12) y minerales (P, Mg, Ca, Fe, Zn, K e I) que pueden servir a los probióticos como factores de crecimiento. Algunas verduras usadas en la fermentación de bebidas probióticas son macroalga, tomate, edamames, verdolaga y té, en las que se ha empleado *L. kunkeei*, *S. boulardii*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* y *S. thermophilus* solos o en combinación con *L. plantarum* (tabla I) (Battistini *et al.*, 2018; Di Cagno *et al.*, 2019; Oh *et al.*, 2020; Trung *et al.*, 2021;

Wang *et al.*, 2022). Se han observado distintos efectos según la cepa o cocultivo utilizado. En la fermentación de verduras, *L. plantarum* ha demostrado un incremento rápido en crecimiento y acidificación cuando se utiliza de forma individual; sin embargo, cuando se combina con cepas como *S. boulardii*, la velocidad de crecimiento disminuye, pero incrementa la magnitud de crecimiento de la bacteria hasta en 1.5 log UFC/mL. Los autores sugieren que este efecto se debe a que las levaduras estimulan el crecimiento de BAL durante la fermentación y el almacenamiento de la bebida (Oh *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022). De forma similar, *L. casei* ha mostrado una acidificación más rápida que cuando se usa en combinación con *S. boulardii*, lo que evidencia su capacidad para producir enzimas que hidrolizan oligosacáridos en azúcares fermentables (Trung *et al.*, 2021). En la fermentación de verdolaga, *L. kunkeei* preservó el contenido de vitaminas C, A y E, además de incrementar la biodisponibilidad de B2 y TPC (Di Cagno *et al.*, 2019). Resultados similares fueron reportados por Oh *et al.* (2020), quienes observaron que en la fermentación de tomate con *L. plantarum* se incrementó en un 157 % el contenido total de polifenoles.

Tanto en la fermentación de frutos como en verduras, *L. plantarum* se distingue por ser una de las especies más aptas para la fermentación de BPNL debido a su tolerancia a pH ácido y a su frecuente aislamiento de matrices vegetales, lo que facilita su adaptación a este tipo de sistemas alimentarios (Mantzourani *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2022). Después de *L. plantarum*, las especies *L. casei* y *L. acidophilus* suelen ser las más utilizadas. También se han realizado intentos para fermentar frutos y verduras con *S. thermophilus*; sin embargo, este probiótico ha demostrado tener menor potencial de crecimiento en mora azul, debido a que crece a una temperatura superior a 45 °C, aunque se ha adaptado adecuadamente en la fermentación de edamames a 37 °C (Wu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

1.2. Cereales y tubérculos

Los cereales son ricos en hidratos de carbono (50-80 %), fibra dietética (~2 %), vitaminas (A, D, E, B1, B2, B9 y B12), minerales (P, Mg, Ca, Fe, Zn, K e I) y fitoquímicos que los hacen aptos para la fermentación con BAL y levaduras probióticas (Kokwar *et al.*, 2022). Una limitación de los cereales como sustrato de fer-

mentación consiste en su bajo contenido de proteína y deficiencia de lisina y triptófano, por lo que algunos autores han propuesto la germinación de cereales previo a la fermentación y a la fortificación de proteína (Mridula D. y Sharma, 2015; Aparicio-García *et al.*, 2021).

Algunos de los cereales más usados en la fermentación de BPNL son el maíz (Menezes *et al.*, 2018; Wacoo *et al.*, 2019; Väkeväinen *et al.*, 2020); el teff (Alemneh *et al.*, 2021 y 2022); la avena (Aparicio-García *et al.*, 2021); el trigo, la cebada (Mridula D. y Sharma, 2015); el sorgo (Vila-Real *et al.*, 2022); el mijo (Mridula D. y Sharma, 2015; Vila-Real *et al.*, 2022); el yacón (Watanabe *et al.*, 2020), así como mezclas de cereales (Freire *et al.*, 2017; Arslan-Tontul y Erbas, 2020; Kokwar *et al.*, 2022). Los microorganismos más usados para la

fermentación de cereales son *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. rhamnosus* de forma individual y algunos cocultivos probióticos, como *L. paracasei* con *S. cerevisiae*, *L. rhamnosus* con *L. plantarum*, *Weissella confusa* con *L. plantarum* y *Toralaspora delbrueckii* con *L. plantarum*. En menor medida se han usado cepas de *Bifidobacteria* (tabla II). Se ha notado un antagonismo en el uso de *L. paracasei* con *P. kluyveri* en la fermentación de maíz, al reducir la concentración de *L. paracasei* de 7.9 a 7.1 log UFC/mL, y de 6.1 a 5.8 log UFC/mL en la levadura tras fermentación por 24 horas (Menezes *et al.*, 2018). Al igual que en las verduras y frutas, *S. thermophilus* aparenta ser una cepa con menor adaptación a la fermentación de cereales en comparación con los lácteos (Wacoo *et al.*, 2019).

Tabla II. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de cereales

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Avena: cebada: trigo sarraceno: arroz rojo	10 % (p/v)	5 % de FOS + 0.04 % de goma guar	<i>L. plantarum</i> (NCIM 2084/ NCIB 8531)	65 °C durante 30 minutos	37 °C	6 h	-	9	9.7	4.87	0.36	Kokwar <i>et al.</i> (2022)
(Boza) maíz: trigo	25 % (p/v)	10 % de azúcar + 10 % de harina de garbanzo	<i>L. acidophilus</i> LA-5	90 °C durante 90 minutos	37 °C	24 h	Anaerobiosis	5	7.92	4.08	2.58	Arslan-Tontul y Erbas (2020)
Avena germinada	18 % (p/v)	0.35 % de bicarbonato de sodio, 0.2 % de sucralosa y 0.1 % de sal	<i>L. plantarum</i> WCFS1	90 °C durante 30 minutos	30 °C	4 h	Agitación a 140 rpm y anaerobiosis	6.8	8.9	6.9	0.42	Aparicio-García <i>et al.</i> (2021)
Cebada	6 % p/v	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6 % de guar + 7 % de azúcar y 0.01 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	9 h	-	-	10.9	4.3	0.6	Mridula D. y Sharma (2015)
Linaza	9 %	1 % de glucosa	<i>L. rhamnosus</i> GG	60 °C durante 30 minutos	42 °C	24 h	Anaerobiosis	6	7.16	3.53	1.47	Lopusiewicz <i>et al.</i> (2021)
Maíz	8 % (p/v)	-	<i>L. paracasei</i> con <i>S. cerevisiae</i>	90 °C durante 60 minutos	37 °C	24 h	-	6 levaduras y 7 <i>L. paracasei</i>	7.6 <i>L. paracasei</i> y 7.0 levadura	4	> 0.5	Menezes <i>et al.</i> (2018)

Tabla II. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de cereales (continuación)

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Mijo de dedo	10 %	10 % de azúcar	<i>W. confusa</i> 2LABPT05 y <i>L. plantarum</i> 299V	Sin pasteurizar	30 °C	8 h	Agitación a 200 rpm	6	8	4.6	0.027	Vila-Real et al. (2022)
Mijo perla	4 % p/v	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6 % de guar + 7 % de azúcar y 0.01 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	10 h	-	-	11.1	4.3	0.6	Mridula D. y Sharma (2015)
Salvado de arroz	10 %	7.5 % de miel, 0.5 % de pectina, 0.12 % de ácido cítrico y hidrolizado con fitasa	<i>L. casei</i>	90 °C durante 10 minutos	37 °C	72 h	-	-	9	5.8	-	Hatami et al. (2021)
Trigo germinado	7.86 %	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6 % de guar	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	8 h	-	-	11.1	4.3	0.9	Mridula D. y Sharma (2015)
Yacón	60 % (p/v)	0.5 % de ácido ascórbico	<i>B. animalis ssp lactis</i> BB-12	121 °C durante 15 minutos	35 °C	10 h	Anaerobiosis	8	7.33	4.14	0.04	Watanabe et al. (2020)
Yuca y arroz	6 % yuca y 3 % arroz	-	<i>L. plantarum</i> CCMA 0743 y <i>T. delbrueckii</i> CCMA 0235	90 °C durante 20 minutos	37 °C	48 h	-	5 levaduras y 7 bacterias	7.6	4	0.083	Freire et al. (2017)

Fuente: elaboración propia.
Nota: ^atemperatura, ^btiempo, ^cácido láctico.

1.3. Leguminosas y semillas

Las semillas y leguminosas suelen ser una adecuada fuente para la fermentación de bebidas con probióticos. Las leguminosas son ricas en proteína (18-30 %), hidratos de carbono (30-60 %) y fibra (~5 %), con buen aporte de vitamina B9, fósforo y magnesio. Sin embargo, la proteína vegetal puede tener deficiencia de algunos aminoácidos esenciales, como metionina y cisteína, que se encuentran en cereales en adecuadas cantidades. Es por ello que algunos autores han optado por la combinación de leguminosas, cereales y semillas (Santos et al., 2014; Chavan et al., 2018; Ferreira et al., 2022).

Las semillas son densas en energía, con una alta cantidad de ácidos grasos mono y poliinsaturados (15-20 %), fibra (> 2.5 %), vitaminas (B6 y B2) y minerales (Mg, Ca y Fe) (Muncey y Hekmat, 2021). Este grupo de alimentos se

distingue de otras fuentes vegetales por tener un alto contenido de proteína, y cuando se usan como bebidas vegetales que simulan a la leche, tienen atributos sensoriales parecidos a los lácteos (Muncey y Hekmat, 2021).

Las semillas más utilizadas son el cacahuate, la almendra y las semillas de girasol, mientras que las leguminosas más empleadas son el garbanzo y el frijol. De forma innovadora, se ha implementado la fermentación de semillas autóctonas como nueces brasileñas y cacao blando. Los probióticos más usados en la fermentación de semillas son *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* y algunas levaduras como *Debaryomyces hansenii* y *S. cerevisiae* (tabla III) (Santos et al., 2014; Mridula D. y Sharma, 2015; Pereira et al., 2017; Chavan et al., 2018; Cunha Júnior et al., 2020; Mesquita et al., 2020; Muncey y Hekmat, 2021; Ferreira et al., 2022).

Tabla III. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de leguminosas y semillas

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Cacahuete y soya	20 % (p/v)	-	<i>Pediococcus acidilactici</i> (UFLA BFFCX 27.1) con <i>S. cerevisiae</i> (UFLA YFFBM 18.03)	90 °C durante 20 minutos	37 °C	24 h	-	7	9	4.3	0.5	Santos et al. (2014)
Almendra		2 % de inulina	<i>L. rhamnosus</i> GR-1	121 °C durante 15 minutos	37 °C	9 h	Anaerobiosis	7	8	6.5	-	Muncey y Hekmat (2021)
Cacao blando	34 % (p/v)	-	<i>L. casei</i> NRRL B- 442	-	30 °C	18 h	-	7	9.3	4.3	0.55	Pereira et al. (2017)
Chicharo y coco	10 % de bebida vegetal de chicharo y 90 % de bebida vegetal de coco	-	<i>L. paracasei</i> LBC 81	121 °C durante 15 minutos	37 °C	9 h	-	7.2	8.6	4.8	0.22	Mesquita et al. (2020)
Frijol mungo	6 % (p/v)	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6% de guar + 7 % de azúcar y 0.01 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	10 h	-	-	10.9	4.3	0.6	Mridula D. y Sharma (2015)
Semillas germinadas de cebada, ragi, frijol makusta	4 % (p/v)	92 % de bebida vegetal de coco, 4 % de azúcar y 0.07 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i>	90 °C durante 5 minutos	37 °C	6 h	-	4	11.4	4.5	1.2	Chavan et al. (2018)
Nueces brasileñas	25 %	2.5 % de inulina, 0.5 % de pectina y 5 % de azúcar	<i>L. casei</i>	80 °C durante 10 minutos	37 °C	12 h	Anaerobiosis	6.5	9.46	5.5	0.12	Cunha Júnior et al. (2020)
Semillas de girasol, avena y almendras	25 % (p/v)	-	<i>D. hansenii</i> y <i>L. plantarum</i>	80 °C durante 40 minutos	30 °C	12 h	-	6 levaduras y 7 <i>L. plantarum</i>	7.5 lev. y 8.5 <i>L. plantarum</i>	4.2	0.28	Ferreira et al. (2022)

Fuente: elaboración propia.
Nota: ^atemperatura, ^btiempo, ^cácido láctico.

2. Efecto de la fermentación con probióticos en las características de las bebidas terminadas

2.1. Características fisicoquímicas

2.1.1. pH, ácidos orgánicos y azúcares

La disminución del pH de forma rápida es un factor importante para el desarrollo de BPNL, ya que mejora la supervivencia de los probióticos en cantidades superiores a $6 \log \text{ UFC/mL}$ (Fonseca *et al.*, 2022). Es vital alcanzar valores de pH por debajo de 4.5 de forma rápida, puesto que disminuye el riesgo de contaminación microbiana durante la fermentación (Oh *et al.*, 2020; Alemneh *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021). Esto se debe a que el pH bajo incrementa la concentración de ácidos orgánicos no disociados, lo que genera efectos antimicrobianos e inhibe los microorganismos causantes de deterioro que pudieran competir por nutrientes (Fonseca *et al.*, 2022). El metabolismo de azúcares produce ácidos orgánicos, por lo que la acidez de la bebida está íntimamente relacionada con las rutas metabólicas usadas por los microorganismos.

En particular, *L. acidophilus* prefiere la glucosa y la fructosa; se trata de una bacteria homofermentativa que emplea la ruta de Embden Meyerhof Parnas para la producción de ácido láctico (Yan *et al.*, 2019). En la fermentación del fruto de pan y bebida vegetal de coco, *L. acidophilus* se ha distinguido por provocar una disminución más rápida del pH en comparación con *L. plantarum*, *L. rhamnosus* o *L. casei* (Chavan *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2019).

Por su parte, *L. plantarum* y *L. casei* producen ácido láctico mediante el metabolismo de glucosa y fructosa. La velocidad de producción de ácido láctico y, por tanto, de acidificación, dependerá del contenido de estos sustratos en la matriz alimentaria

(Bernal-Castro *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021; Cunha Júnior *et al.*, 2022). En la fermentación de mora azul (Yan *et al.*, 2019) y teff (Alemneh *et al.*, 2021) con *L. rhamnosus* GG y *L. plantarum*-1 se utilizaron diferentes fuentes de carbono priorizando el uso de glucosa, seguido de fructosa, sacarosa y maltosa, y se alcanzó un pH cercano a 4.5. En algunos casos, como en la fermentación de jujuba y brotes de bambú con *L. plantarum*, no se registraron cambios significativos ($p < 0.05$) en el contenido de azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) después de la fermentación tras 14 horas (Zhao *et al.*, 2021). *L. casei* se distingue de *L. plantarum* por tener adaptabilidad a medios pobres en monosacáridos, ya que, por su actividad enzimática, metaboliza con mayor facilidad los oligosacáridos (agarosa) y la lactosa, lo que le permite incrementar el contenido de azúcares a partir de oligosacáridos y continuar acidificando el medio (Trung *et al.*, 2021).

L. paracasei, por su parte, es una bacteria heteroláctica, capaz de producir ácido acético y láctico. Cuando se utiliza de forma individual, ha mostrado una rápida acidificación del sustrato, aunque menor que cuando se emplea en cocultivo con levaduras. Aplicada en una bebida de maíz de forma individual, logró reducir el pH alrededor de 5.0 en aproximadamente 12 horas, mientras que en combinación con *S. cerevisiae*, alcanzó un pH de 4.0 en seis horas (Menezes *et al.*, 2018).

Pocas investigaciones incluyen la fermentación con *Bifidobacteria* de forma individual. En piña adicionada con azúcares, los autores identificaron que prefiere la glucosa a la fructosa y otros azúcares, aunque tiene la ventaja de hidrolizar carbohidratos e incluso puede usar sacarosa en su forma nativa, aunque tienen una baja velocidad de acidificación y una mayor producción de ácido acético (Nguyen *et al.*, 2019). *B. lactis* ssp. *lactis* ha sido empleado para la fermentación de yacón, aunque

se observó una tendencia de disminución de la viabilidad en el almacenamiento (Watanabe *et al.*, 2020).

Por otra parte, las levaduras prefieren la glucosa y fructosa como sustrato para la fermentación y generarán ácido málico (Gerardi *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021). Son más eficientes en el uso de glucosa como sustrato en comparación con las bacterias, dependen de la concentración inicial de azúcares en el medio, por lo que una vez agotado este sustrato, dejarán de fermentar la bebida, y habrá una disminución en la velocidad de acidificación. En la fermentación de cereza coralina con *P. kudriavzevii* DCNa1 y *W. subpelliculosus* DFNb6, hubo una disminución significativa ($p < 0.05$) en el contenido de glucosa y fructosa entre el inicio y término de la fermentación (Di Cagno *et al.*, 2020). En la investigación realizada por Gerardi *et al.* (2019), la fermentación de cereza de Santa Lucía con *S. cerevisiae* L1180-7 mostró un uso más efectivo de glucosa en comparación con la fermentación con *L. plantarum*. La eficiencia del uso de glucosa incrementó cuando ambos microorganismos se utilizaron como cocultivo siendo indetectable a los siete días de fermentación. Los ácidos orgánicos generados dependieron también de la cepa utilizada, *S. cerevisiae* tuvo como subproducto ácido málico, etanol y glicerol, *L. plantarum* produjo ácido láctico, mientras que al usarse como cocultivo generaron ácido acético y láctico, así como una mayor concentración de etanol.

Asimismo, durante la fermentación, algunos ácidos orgánicos diferentes al ácido láctico pueden disminuir en contenido, ya que algunos microorganismos como *L. casei* tienen la capacidad de emplear al ácido cítrico como fuente de carbono, mientras que *L. plantarum* y *S. thermophilus* pueden biotransformar el ácido málico o pirúvico por fermentación homoláctica, heteroláctica y otras vías metabólicas, lo que da como resultado un

incremento de ácido láctico, ácido acético y diacetil (Freitas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021). Esto sucedió en la fermentación de mora azul (Yan *et al.*, 2019) con *L. rhamnosus* GG y *L. plantarum*-1, en la que también disminuyeron el ácido tartárico y oxálico. A su vez, Wu *et al.* (2021) observaron que en la zarzamora y la mora azul con *L. plantarum* y *B. bifidum*, además de presentar una disminución del ácido málico y cítrico, también hubo una reducción en el contenido de ácido shikímico.

Cabe considerar que la concentración y el tipo de matriz alimentaria modifican la velocidad de acidificación y las características finales de la bebida. En un estudio realizado por Hatami *et al.* (2021), se observó que la concentración de extracto de salvado de arroz afectó el pH y la acidez titulable, así como una disminución del contenido de sólidos totales. Esto es similar a lo reportado por Mridula *et al.* (2015), quienes hallaron que el incremento en el porcentaje de bebida vegetal de soya para fermentar cereales tuvo un efecto positivo en la velocidad de acidificación. En cuanto al tipo de matriz alimentaria, algunos microorganismos como *L. acidophilus* logran adaptarse mejor en alimentos ricos o adicionados con proteína y, por tanto, producen una mayor concentración de ácido láctico que se traduce en un pH más bajo (Prado *et al.*, 2015; Chavan *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022).

Por último, otra circunstancia que afecta la velocidad de acidificación de las BPNL es la selección del cultivo iniciador. El uso de cepas individuales ha permitido alcanzar la concentración de probióticos necesaria y acidificar la bebida. Sin embargo, el uso de cocultivos ha logrado los mismos resultados en menor tiempo. En el caso de una bebida a base de teff, *L. plantarum* fue más efectivo en combinación con *L. rhamnosus* que de forma individual (Alemneh *et al.*, 2021).

2.1.2. Viscosidad

Pocos estudios han evaluado la viscosidad de las BPNL. La viscosidad puede modificarse tras la fermentación por la naturaleza de la matriz alimentaria. Di Cagno *et al.* (2020) notaron un incremento significativo ($p < 0.05$) de la viscosidad aparente de la bebida fermentada a base de cereza coralina en comparación con el control sin fermentar. Se obtuvo un valor inicial de 35.6 mPa que incrementó a 51.5 mPa tras 48 horas de fermentación a 30 °C con *P. kudriavzevii* DCNa1 y *Wucherhamomyces subpelliculosus* DFNb6. De acuerdo con los autores, ello pudo deberse a la capacidad de estas levaduras para producir polisacáridos, los cuales incrementan de forma inherente su viscosidad.

Otro factor que puede modificar la viscosidad es el uso de aditivos como gomas y fructooligosacáridos (FOS) en la formulación. En un experimento realizado por Kokwar *et al.* (2022), donde se fermentó una mezcla de cereales con diferentes mezclas de FOS y gomas, se observó que una adición de 5 % de FOS y 0.04 % de goma guar produjo una viscosidad de 61.67 cP, con una aceptación de 8.13 puntos en consistencia en una evaluación hedónica de nueve puntos. Asimismo, los autores identificaron que una viscosidad superior a 65 cP genera productos muy espesos, por lo que no es deseable en bebidas.

Vila-Real *et al.* (2022) proponen que los cambios de viscosidad en la fermentación de BPNL puede deberse también al tipo de cepa utilizada. En su investigación, identificaron una mayor viscosidad en el cocultivo de *W. confusa* con *L. plantarum* en una bebida a base de mijo de dedo. Tras la fermentación, la viscosidad incrementó significativamente de 11.9 a 35 mPas·s, que se atribuye a la capacidad de *W. confusa* de producir exopolisacáridos durante la fase estacionaria. Este fenómeno es dependiente del contenido de sacarosa. Por otro lado, algunos microorganismos pueden disminuir la viscosidad, ya que ocupan la fibra soluble como sustrato de fermentación. Esto pudo observarse en una bebida a base de linaza, en la que *L. rhamnosus* usó parcialmente al mucilago como sustrato de fermentación, lo que redujo su presencia y disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la viscosidad final de la bebida (13.05 mPa·s) (Lopusiewicz *et al.*, 2021).

La temperatura también influye en la viscosidad y puede incrementarla hasta diez veces cuando la bebida pasa de tem-

peratura ambiente a refrigeración. Este fenómeno puede explicarse por la retrogradación del almidón en bebidas a base de cereales (Vila-Real *et al.*, 2022).

2.2. Características sensoriales

2.2.1. Color

En las bebidas fermentadas, el color puede modificarse por la reacción de Maillard, la oxidación de lípidos y compuestos fenólicos, así como por oscurecimiento enzimático (Prado *et al.*, 2015; Lopusiewicz *et al.*, 2021). Adicionalmente, se ha atribuido el cambio de color al aumento de la concentración de microorganismos, ya que estos pueden actuar como partículas de dispersión de luz que modifican los parámetros de color (Mesquita *et al.*, 2020).

En bebidas de coco, la pasteurización y la fermentación generan un producto más claro y amarillo indeseable (Cunha Júnior *et al.*, 2022). En cambio, en las bebidas a base de frutos rojos se ha demostrado que la fermentación tiene un efecto positivo, ya que al acidificarse el medio, ocurren cambios estructurales en las antocianinas presentes en el fruto, lo que da lugar a colores más vivos y mejor calificados por el panel evaluador (Freitas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

Sin embargo, también existen frutos en los que la fermentación no genera cambio de color perceptible por el ojo humano ($\Delta E < 2.0$), como ocurre con la producción de una bebida de maracuyá (Fonseca *et al.*, 2022) y en una bebida de jujuba y brote de bambú (Zhao *et al.*, 2021). Una de las estrategias para evitar cambios de color consiste en escaldar la matriz alimentaria junto con el uso de ácido ascórbico como pretratamiento previo a la fermentación; ambas estrategias han resultado eficaces para fijar el color del producto y evitar cambios en el color por oxidación enzimática (Watanabe *et al.*, 2020).

2.2.2. Sabor

En gran medida, los sabores presentes en las bebidas fermentadas también dependen de las características iniciales de la matriz alimentaria utilizada, así como de la incorporación de ingredientes adicionales que mejoren el sabor, como acidulantes y azúcares. Múltiples BPNL han sido aceptadas organolépticamente (tabla IV).

Tabla IV. Evaluación sensorial hedónica de bebidas probióticas no lácteas

Microorganismo	Alimento	Tipo de evaluación sensorial	Número y tipo de jueces	Características evaluadas	Aceptabilidad general	Fuente
<i>L. casei</i>	Salvado de arroz	Hedónica, 10 puntos	10 panelistas	Color: 8.0, sabor: 8.5, aroma: 9.0	8.8	Hatami <i>et al.</i> (2021)
<i>L. acidophilus</i>	Trigo	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Apariencia: 8.1, cuerpo: 8.6, olor: 8.4, sabor: 8.3	8.43	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	Granada	Hedónica, 10 puntos	30 jueces no entrenados	Aroma: 8.6, sabor: 8.5	8.2	Mantzourani <i>et al.</i> (2019)
<i>L. acidophilus</i>	Cebada, ragi y frijol makusta	Hedónica, 9 puntos	15 panelistas	Apariencia: 7.1, aroma: 8.2, consistencia: 6.3, sabor: 7.9	8	Chavan <i>et al.</i> (2018)
<i>L. plantarum</i> (NCIM 2084/NCIB 8531)	Avena, cebada, trigo sarraceno y arroz rojo	Hedónica, 9 puntos	10 jueces entrenados	Apariencia: 7.86, sabor: 7.9, aroma: 7.86, sensación en boca: 8.06, consistencia: 8.13	7.99	Kokwar <i>et al.</i> (2021)
<i>L. acidophilus</i>	Frijol mungo	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Cuerpo: 7.4, olor: 7.6, sabor: 7.5	7.6	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. acidophilus</i>	Avena	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Apariencia: 7.4, cuerpo: 6.9, olor: 6.9, sabor: 7.1	7.5	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. acidophilus</i>	Cebada	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Apariencia: 7.4, cuerpo: 8.6, olor: 8.4, sabor: 8.5	7.4	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. plantarum</i> WCFS1	Avena germinada	Hedónica, 9 puntos	16 panelistas no entrenados	Color: 7, aroma: 6.0, sabor: 6.3, consistencia: 8.8	6.8	Aparicio-García <i>et al.</i> (2021)
<i>L. rhamnosus</i>	Maíz	Hedónica, 9 puntos	62 panelistas	Apariencia: 6.2, color: 6.6, aroma: 6.7, sabor: 6.8	6.4	Wacoo <i>et al.</i> (2019)
<i>L. casei</i> NRRL B- 442	Acai	Hedónica, 9 puntos	60 jueces no entrenados	Color: 6.07, apariencia: 5.7, sabor: 6.43	6.13	Freitas <i>et al.</i> (2021)
<i>L. plantarum</i> CCMA 0743 y <i>T. delbrueckii</i> CCMA 0235	Yuca y arroz	Hedónica, 9 puntos	50 panelistas no entrenados	Apariencia: 6.17, sabor: 4.94, color: 6.01	5.23	Freire <i>et al.</i> (2017)
<i>L. plantarum</i> AC-1	Agua de coco	Hedónica, 7 puntos	20 no entrenados	Aspecto: 4.35, color: 3.90, aroma: 3.1, sabor: 4.05	3.75	Prado <i>et al.</i> (2015)
<i>L. plantarum</i> FG69 y <i>S. cerevisiae</i> Li180-7	Cereza de Santa Lucía	Descriptiva, 5 puntos de intensidad	7 jueces no entrenados	Dulzor: 1.29 y acidez: 2.43	2.57	Gerardi <i>et al.</i> (2019)

Fuente: elaboración propia.

Un parámetro crucial en la aceptabilidad del sabor es la presencia de ácido láctico, que en ocasiones se ha correlacionado con una mayor aceptabilidad e intención de compra. No obstante, cuando este metabolito se encuentra en cantidades excesivas, puede generar una percepción aumentada de sabores amargos y ácidos que comprometería la aceptación del producto (Wu *et al.*, 2021). Por otro lado, el ácido acético es indeseable en las bebidas fermentadas, ya que se ha relacionado con sabores pungentes y desagradables. Diversos autores (Yan *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021) han mostrado que para reducir la producción de ácido acético se recomienda un tiempo de fermentación inferior a 24 horas y no inocular el probiótico con más de 7 log UFC/mL.

Adicionalmente, ciertos componentes de la matriz alimentaria pueden afectar la aceptación del sabor de la bebida. Por ejemplo, alimentos ricos en taninos, como frutas y verduras, pueden presentar una mayor acidez y astringencia en la bebida terminada. Se ha observado que en estos casos la fermentación con probióticos puede mejorar la calidad sensorial del alimento al biotransformar algunos ácidos orgánicos y fenólicos, lo que disminuye la percepción de sabores indeseables (Wu *et al.*, 2021). En el caso de los cereales, que inicialmente tienen un sabor más neutro, su aceptabilidad está determinada en gran medida por la acidez; a mayor acidez, menor aceptación (Wacoo *et al.*, 2019). En algunos casos se ha optado por añadir especias, como canela o cardamomo, y edulcorantes (sacarosa, sucralosa y glucosa) que mejoran el sabor de la bebida fermentada (Mridula D. y Sharma, 2015; Cunha Júnior *et al.*, 2022).

Por otra parte, los sabores obtenidos en la fermentación de BPNL también se han correlacionado con el tipo de cultivo usado. En particular, Gao *et al.* (2019) mostraron que, entre las diferentes cepas utilizadas para la fermentación de fruto de pan, las fermentadas de forma individual y en combinación con *L. casei* generaron sabores desagradables. También ha sucedido con la fermentación de maíz con *L. plantarum*, que generó sabores ácidos, pungentes, intensos y desagradables, en comparación con *L. lactis* y *P. pentosaceus*, que generaron

sabores más suaves, frescos y dulces (Väkeväinen *et al.*, 2020). Por el contrario, el uso de cocultivos de probióticos puede generar sabores con mayor aceptabilidad, como es el caso de *L. plantarum* con *L. acidophilus* o con levaduras, combinaciones que han reportado sabores frutales agradables y un nivel de acidez suave (Gao *et al.*, 2019; Gerardi *et al.*, 2019).

2.2.3. Aroma y compuestos volátiles

El tipo y la cantidad de compuestos volátiles presentes en las bebidas fermentadas determinan características organolépticas únicas; por ello, su presencia es deseable y está íntimamente ligada con la aceptación sensorial del producto. La producción de compuestos volátiles se ve favorecida por el alto contenido de hidratos de carbono, de modo que las frutas, verduras, cereales y leguminosas fermentadas suelen producir diferentes olores agradables (Trung *et al.*, 2021). Debe recordarse que, al igual que otros parámetros sensoriales, el tipo y cantidad de compuestos volátiles son dependientes de la cepa usada en la fermentación, dado que son metabolitos generados por las rutas metabólicas preferidas por cada microorganismo (Fonseca *et al.*, 2022).

En el caso de la fermentación de cereza coralina, se han identificado alcoholes (1-pentanol, feniletanol, etanol, farnesol, 2-metil-1-propanol y neridol) y ésteres (etil acetato) relacionados con aromas florales y frutales agradables (Di Cagno *et al.*, 2020). En la fermentación de granada se han identificado alcoholes con perfil floral, como el 2-etil-1-hexanol (Mantzourani *et al.*, 2019). En la fermentación de maracuyá se produjeron 2,6-octadien-1-ol, 3,7-dimetil- y 1-dodecanol, compuestos atribuidos a olores frutales, florales y a grasa (Fonseca *et al.*, 2022). En la fermentación de té se ha observado producción de etil-ésteres, metil-salicilato, geranio y 2-feniletanol, relacionados con aromas frutales y mentolados, así como una reducción de sabores herbales y frescos (Wang *et al.*, 2022).

En cereales, la fermentación proporciona la formación de compuestos volátiles, como ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, cetonas y carbonilos, que contribuyen a sabores complejos

que los hace más apetitosos (Kokwar *et al.*, 2022). En semillas se ha identificado la producción de compuestos volátiles con percepción sensorial amaderada, especiada, floral, de lavanda, rosas, dulces, afrutada y de cocoa, así como aromas desagradables a grasa, pungentes y rancio (Ferreira *et al.*, 2022). En contraste, las altas concentraciones de aldehídos se han vinculado con percepción sensorial desagradable, por generar olores similares a lácteos, grasa, jabón, metálicos y pungentes (Mantzourani *et al.*, 2019; Di Cagno *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2022).

3. Beneficios a la salud asociados al consumo de bebidas probióticas fermentadas no lácteas

3.1. Aporte nutrimental

Las BPNL son ricas en fibra por la naturaleza de sus ingredientes, la adición de gomas o FOS y por la producción de exopolisacáridos de los probióticos durante la fermentación. La fibra otorga múltiples beneficios a la salud, además de funcionar como prebiótico y aumentar la viabilidad de los probióticos de las bebidas durante su almacenamiento (Zhao *et al.*, 2021). Las bebidas a base de cereales han mostrado tener un aporte de 4.5 % de fibra total, mientras que las bebidas a base de frutos suelen tener un menor contenido de fibra, cercano al 1 % (Zhao *et al.*, 2021; Kokwar *et al.*, 2022). El contenido y tipo de hidratos de carbono de las bebidas a base de plantas les confiere un índice glucémico bajo (< 55), por lo que pueden ser consumidas por población con enfermedades metabólicas como diabetes, síndrome metabólico, dislipidemias, entre otras (Kokwar *et al.*, 2022).

En cuanto al aporte proteínico, la fermentación de fuentes vegetales ha incrementado hasta tres veces la presencia inicial de treonina, arginina, ácido gamma aminobutírico y glutamina, aminoácidos con impacto positivo en el mantenimiento de la integridad de la mucosa y la barrera intestinal, así como en la modulación de la motilidad intestinal. Además del aporte de aminoácidos, la fermentación mejora la digestibilidad de las proteínas, ya que el pH bajo favorece la desnaturalización de proteínas y, al mismo tiempo, mejora la actividad

enzimática de proteasas. Este proceso transforma las estructuras proteínicas complejas en péptidos de menor tamaño que pueden absorberse de forma más eficiente (Oh *et al.*, 2020; Vila-Real *et al.*, 2022).

En cuanto a las grasas, los probióticos pueden producir ácidos grasos de cadena corta que ayudan a combatir trastornos como diarrea, síndrome de intestino irritable, problemas cardíacos y diabetes tipo 2. También se han producido ácidos grasos de cadena larga como ácido linoleico y mirístico, que intervienen en el metabolismo del colesterol y los triglicéridos, además de disminuir la resistencia a la insulina (Aparicio-García *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2022).

Igualmente, la fermentación de fuentes vegetales puede incrementar la presencia de compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos, flavonoides, glutatión, butirato, folato y aminoácidos bioactivos, los cuales a su vez incrementan la actividad antioxidante (Nguyen *et al.*, 2019; Oh *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021; Lopusiewicz *et al.*, 2021). Por otra parte, la fermentación reduce la presencia de antinutrientes que pudieran afectar la digestibilidad proteínica, la biodisponibilidad de micronutrientes e incluso el metabolismo de algunos microorganismos, dado que algunos microorganismos producen enzimas capaces de degradar estos compuestos.

En una bebida a base de mijo de dedo, la digestibilidad de proteínas incrementó de 25 a 64 % después de la fermentación. Los autores atribuyeron este efecto a la posible reducción de taninos en la bebida tras la fermentación, ya que estos compuestos pueden interferir con la acción de las enzimas digestivas; al disminuir su presencia, se incrementan la digestibilidad y biodisponibilidad de proteínas. En el mismo estudio, se desarrolló una bebida fermentada a base de sorgo que, en comparación con la de mijo de dedo, presentó menor velocidad de acidificación y menor crecimiento microbiano, especialmente de levaduras. Los autores mencionan que esto pudo deberse al alto contenido de taninos en la harina de sorgo, los cuales pudieron haber interferido con el crecimiento de *Weissella*, mientras que *L. plantarum* 299V resultó ser una cepa más apta

para la fermentación de este cereal por presentar actividad de tanasa, la cual es capaz de metabolizar estos compuestos fenólicos (Vila-Real *et al.*, 2022).

Adicionalmente, antinutrientes como los fitatos pueden afectar la absorción de minerales y vitaminas. Se ha identificado que algunos probióticos, en especial *Lactiplantibacillus*, pueden producir fitasas que resultan en un incremento de vitaminas del complejo B, zinc, calcio, magnesio, fósforo, hierro y manganeso en las bebidas terminadas, en comparación con el sustrato inicial. Este efecto puede incrementarse si se combina con una fermentación de entre 35 y 42 °C, temperatura ideal para la actividad de fitasas (Freire *et al.*, 2017; Di Cagno *et al.*, 2019; Vila-Real *et al.*, 2022).

Por último, recientemente se ha investigado el efecto de la fermentación en la reducción de micotoxinas; en este sentido, *L. rhamnosus* ha reducido de forma exitosa el contenido de aflatoxinas en bebidas fermentadas a base de maíz (Wacoo *et al.*, 2019).

3.2. Estudios preliminares de efectos en la salud de bebidas probióticas no lácteas

El consumo de probióticos se usa como estrategia para mejorar el equilibrio de la microbiota y, de esta forma, obtener beneficios en la salud. Al consumir probióticos se corrige la disbiosis intestinal, lo que mejora el metabolismo de la lactosa, la inmunidad, la absorción de calcio, la digestibilidad de proteínas y la síntesis de vitaminas, además de reducir los niveles de colesterol (Watanabe *et al.*, 2020; Rasika *et al.*, 2021).

Algunos estudios han aplicado BPNL en modelos *in vivo* e *in vitro* para demostrar el efecto en la salud. El efecto antimicrobiano es uno de los más reportados en probióticos, como consecuencia de la producción de compuestos antimicrobianos —bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácidos orgánicos— que evitan la colonización de microorganismos patógenos en el intestino. Este efecto fue evaluado con una cepa de *L. rhamnosus* presente en una bebida fermentada de bagazo de linaza desgrasado y artificialmente contaminado con *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. entérica* y *S. aureus*, y mostró una reducción completa de estos microorganismos patógenos después de 48 horas (Lopusiewicz *et al.*, 2021). En un estudio similar, Zamfir *et al.*

(2022) obtuvieron una inhibición total de *E. coli*, *B. cereus*, *S. entérica*, *L. monocytogenes* y *S. aureus* en bebidas a base de salvado de trigo con zanahoria o betabel fermentadas por *L. plantarum* o *L. acidophilus*. De igual forma, Angelescu *et al.* (2019) confirmaron la actividad antibacteriana *in vitro* de diferentes cepas aisladas de bebidas lácteas y vegetales, como *L. harbinensis*, *L. ghanensis*, *L. satsumensis* y *L. plantarum* ante *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* y *E. coli*. Por su parte, Di Cagno *et al.* (2020) identificaron, en un estudio *in vitro*, que *Pichia kudriavzevii* tiene alta adherencia al intestino, hidrofobicidad y autoagregación, características que le otorgarían una mayor facilidad de colonización en el intestino y que, por tanto, podría prevenir la colonización de patógenos.

Asimismo, Yan *et al.* (2019) midieron *in vitro* en ratones el efecto antiestrés oxidativo e hipocolesterolemizante de una bebida probiótica de mora azul fermentada con *L. plantarum*. Los autores atribuyeron la baja colesterolemia a la posible unión hidrofóbica del colesterol con las antocianinas presentes en la bebida que evitaban su absorción. El efecto antiestrés oxidativo, por su parte, se vinculó a una mayor presencia de polifenoles y flavonoides en la bebida fermentada en comparación con la bebida control. Estos antioxidantes redujeron la presencia de radicales libres que causan fatiga, lo que se tradujo en un incremento en la resistencia de nado de los ratones. Cabe mencionar que el efecto fue directamente proporcional a la dosis consumida de la bebida fermentada probiótica.

Otro de los efectos en salud se observó en una bebida de verdolaga fermentada con *L. kunkei*, que disminuyó los niveles de citocinas proinflamatorias y radicales libres. Al mismo tiempo, inhibió la inflamación inducida de células monocapa Caco-2, lo que sugiere que esta bebida tiene la capacidad de contrarrestar la inflamación intestinal y el daño epitelial. Los autores atribuyen este efecto al TPC y a las vitaminas C, A, E y B2 de la bebida, los cuales podrían limitar la producción de prostaglandina E2, un compuesto crítico en la reacción inflamatoria aguda (Di Cagno *et al.*, 2019). Se requieren más estudios para la aplicación *in vivo* de estas bebidas.

4. Retos y oportunidades en el uso de probióticos como cultivos iniciadores

4.1. Viabilidad de los probióticos

La viabilidad y supervivencia de los probióticos en las BPNL establecen el tiempo de vida de anaquel del producto, ya que para que una bebida sea considerada probiótica debe mantener una concentración mínima de microorganismos vivos en el momento del consumo. La FAO (2001) estableció como mínimo un valor de 1×10^7 UFC/mL; otras organizaciones, como The Canadian Food Inspection Agency, establece una cantidad de 9 log UFC por porción (Alemneh *et al.*, 2022). La viabilidad de los probióticos suele disminuir a lo largo del almacenamiento, por lo que se han aplicado diversas estrategias para mantener estable su contenido.

La primera estrategia consiste en otorgar los suficientes nutrientes para que los probióticos continúen incrementando su concentración durante el almacenamiento; para ello es esencial una buena fuente de nutrientes como azúcares, proteínas y minerales de reserva tras la fermentación (Kokwar *et al.*, 2022). No obstante, el aumento de fuentes de carbono también incrementará la producción de ácido, lo cual, como se ha mencionado, podría no ser deseable (Yan *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021).

Debe considerarse que un ambiente ácido, en conjunto con otros compuestos antimicrobianos producidos por probióticos (diacetil, bacteriocinas y peróxido de hidrógeno), puede evitar el riesgo de contaminación con microorganismos pató-

genos, pero también incrementar el estrés de los probióticos en la bebida y poner en riesgo su supervivencia. Por ello, una segunda estrategia consiste en evitar un pH debajo de 3.5 al finalizar la fermentación (Lopusiewicz *et al.*, 2021). Adicionalmente, podrían añadirse prebióticos que funjan como reserva de fuente de carbono o que encapsulen a los probióticos, protegiéndolos del ambiente ácido y hostil que pudiera generarse a lo largo del almacenamiento (Nguyen *et al.*, 2019; Cunha Júnior *et al.*, 2020 y 2022; Freitas *et al.*, 2021; Muncey y Hekmat, 2021; Kokwar *et al.*, 2022).

Otra estrategia es el uso de cocultivos, el cual parece mejorar la viabilidad de algunas BPNL; como se ha comentado, los microorganismos podrían competir por los sustratos, generando menos metabolitos indeseados, o bien producir compuestos útiles, de modo que se genere una sinergia y se incremente la viabilidad de ambos microorganismos (Freire *et al.*, 2017; Menezes *et al.*, 2018; Gerardi *et al.*, 2019; Di Cagno *et al.*, 2020; Alemneh *et al.*, 2021; Trung *et al.*, 2021).

Por último, la refrigeración ha sido el método de conservación más utilizado en las BPNL. Múltiples bebidas han logrado mantener su efecto probiótico en almacenamiento por al menos 28 días a 4 °C (tabla V). Esto es posible porque la refrigeración disminuye la velocidad de crecimiento de los microorganismos como resultado de la disminución de la actividad enzimática (amilasa y glucosidasa) y de las reacciones químicas necesarias para el metabolismo de los microorganismos (Alemneh *et al.*, 2022).

Tabla V. Viabilidad de probióticos en almacenamiento

Sistema alimenticio	Probiótico	Prebiótico	Tiempo	Temperatura	Conteo inicial	Conteo final	Referencias
Teff	<i>L. plantarum</i> y <i>L. rhamnosus</i>	-	25 días	4-6 °C	8.2 LA6 y 8.4 LGG	8.28 <i>L. plantarum</i> y 7.86 <i>L. rhamnosus</i>	Alemneh <i>et al.</i> (2022)
Avena germinada	<i>L. plantarum</i> WCFS1	-	20 días	4 °C	8.9	8.9	Aparicio-García <i>et al.</i> (2021)

Tabla V. Viabilidad de probióticos en almacenamiento (continuación)

Sistema alimenticio	Probiótico	Prebiótico	Tiempo	Temperatura	Conteo inicial	Conteo final	Referencias
(Boza) maíz: trigo	<i>L. acidophilus</i> LA-5	-	12 días	4 °C	7.92	6.96	Arslan-Tontul y Erbas (2020)
Edamames	<i>S. thermophilus</i>	-	28 días	5 °C	8.22	7.9	Battistini et al. (2018)
Nueces brasileñas	<i>L. casei</i>	2.5 % de inulina, 0.5 % de pectina y 5 % de azúcar	28 días	4 °C	9.46	8.58	Cunha Júnior et al. (2020)
Pulpa de coco	<i>L. casei</i>	2.5 % FOS*, 0.5 % de pectina y 5 % de azúcar	28 días	4 °C	9.2	9.06	Cunha Júnior et al. (2022)
Semillas de girasol, avena y almendras	<i>D. hansenii</i> y <i>L. plantarum</i>	-	28 días	4 °C	7.5 <i>D. hansenii</i> y 8.5 <i>L. plantarum</i>	> 8	Ferreira et al. (2022)
Maracuyá	<i>L. plantarum</i> y <i>L. paracasei</i>	-	28 días	4 °C	9	8.5	Fonseca et al. (2022)
Acai	<i>L. casei</i> NRRL B- 442	40 g/L FOS + 10 g/L sacarosa	42 días	4 °C	9.7	8.9	Freitas et al. (2021)
Salvado de arroz	<i>L. casei</i>	-	21 días	4 °C	9	7.2	Hatami et al. (2021)
Avena, cebada, trigo sarraceno y arroz rojo	<i>L. plantarum</i> (NCIM 2084/ NCIB 8531)	5 % FOS + 0.04 % goma guar	20 días	4 °C	9.7	7.58	Kokwar et al. (2022)
Granada	<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	-	28 días	4 °C	10.51	8.83	Mantzourani et al. (2019)
Chícharo y coco	<i>L. paracasei</i> LBC 81	-	10 días	4 °C	8.6	8.9	Mesquita et al. (2020)
Almendra	<i>L. rhamnosus</i> GR-1	2 % de inulina	30 días	4 °C	8	> 8	Muncey y Hekmat (2021)
Piña	<i>L. plantarum</i>	FOS: (Raftaline) al 1 %	56 días	4 °C	8	> 9	Nguyen et al. (2019)
Agua de coco	<i>L. plantarum</i> AC-1	-	28 días	4 °C	9.1	8.7	Prado et al. (2015)
Maíz	<i>L. rhamnosus</i>	-	28 días	4 °C	8.7	> 8	Wacoo et al. (2019)
Té verde	<i>S. boulardii</i> CNCM I-745 y <i>L. plantarum</i> 299V	-	31 días	25 °C	7.5	7	Wang et al. (2022)
Yacón	<i>B. animalis ssp lactis</i> BB-12	-	28 días	7 °C	7.33	8.05	Watanabe et al. (2020)

Fuente: elaboración propia.

Nota: *FOS: fructooligosacáridos.

4.2. Uso de aditivos

A pesar de que es posible fermentar fuentes vegetales con probióticos, las BAL suelen tener dificultades para sobrevivir, ya que las matrices alimentarias vegetales son más complejas que las lácteas y carecen de algunos nutrimentos esenciales, como la proteína (Maldonado *et al.*, 2017). Para resolver este problema se ha añadido proteína de soya, gluten, zeína, extracto de levadura o harina de chícharo a matrices alimentarias como coco, té, maíz y boza (Prado *et al.*, 2015; Arslan-Tontul y Erbas, 2020; Wang *et al.*, 2022). La adición de proteína de soya (3 % p/v) con extracto de levadura (0.1 % p/v) en una bebida a base de coco resultó en una mayor densidad óptica de *L. plantarum* y *B. animalis* subsp *lactis* en comparación con la adición de ambos ingredientes en porcentajes inferiores (Prado *et al.*, 2015). En un estudio realizado por Arslan-Tontul y Erbas, (2020), se realizó una bebida estilo boza enriquecida con proteína y evaluaron el efecto de la fuente (gluten, zeína o harina de chícharo) y la cantidad de proteína añadida a la bebida previo a la fermentación. Se observó que el tipo de proteína tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en el pH, el contenido de proteína total y el crecimiento de *S. boulardii*, *L. acidophilus* y *B. bifidum*, además de reportar una mayor producción de compuestos volátiles; la harina de chícharo fue la que generó los mejores resultados.

También se ha propuesto la adición de prebióticos (fructooligosacáridos, inulina y galactooligosacáridos) a bebidas prebióticas fermentadas, ya que, además de aumentar la viabilidad de los probióticos, pueden aportar mayor dulzor, mejorar el sabor y la textura de las bebidas, además de prevenir sinéresis durante el almacenamiento (Prado *et al.*, 2015; Bernal-Castro *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021; Kokwar *et al.*, 2022). No obstante, en algunos casos, como en la fermentación de edamames y piña, la adición de inulina, fructooligosacáridos o ambos no tuvo efecto en la viabilidad de los probióticos (Battistini *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2019).

El pH inicial de los alimentos puede influir en la fermentación, ya que algunos probióticos son susceptibles a condiciones extremas de acidez (pH 2.5-3.6) (Bernal-Castro *et al.*, 2019). En un estudio realizado por Freitas *et al.* (2021) se evaluaron diferentes niveles de pH para el crecimiento de *L. casei* mediante una superficie de respuesta, en las que se halló que un pH

cercano a 6.0 mejoraba la viabilidad del probiótico. Por ello, en algunos alimentos ácidos se opta por alcalinizar el pH de la matriz alimentaria antes de la inoculación mediante la adición de Na_2CO_3 , o NaOH (Mantzourani *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021). Aunque en general la alcalinización tiene efectos favorables, en otros casos, como lo reportaron Aparicio-García *et al.* (2021) en la fermentación de avena germinada, la adición de alcalinizantes provocó que el pH no disminuyera lo suficiente ($\text{pH} > 6.0$), lo que comprometió la inocuidad de la bebida. La alcalinización se realizó con bicarbonato con el objetivo de disminuir la actividad de lipasas, cuya acción se incrementa tras la germinación, lo cual libera ácidos grasos y genera sabores amargos no deseables que después podrían repercutir en la aceptación de la bebida. Cabe señalar que su adición no afectó la viabilidad ni crecimiento de los probióticos. Por este motivo, el impacto negativo en el contenido nutrimental, sensorial y de inocuidad por la alcalinización con Na_2CO_3 y NaOH de la materia prima aún debe ser estudiado (Palencia-Argel *et al.*, 2022). Asimismo, se ha propuesto el uso de alimentos naturalmente alcalinos, como la papaya, para aumentar el pH de bebidas fermentadas (Bernal-Castro *et al.*, 2019).

Por último, se han añadido sabores artificiales, especias, sacarosa y sucralosa para intensificar sabores o mejorar el perfil de las bebidas fermentadas (Mridula D. y Sharma, 2015; Gao *et al.*, 2019; Arslan-Tontul y Erbas, 2020; Freitas *et al.*, 2021; Cunha Júnior *et al.*, 2022). Esto abre una nueva área de oportunidad, en la que las bebidas fermentadas puedan combinarse con ingredientes que mejoren su aceptación sensorial, recuperen aromas perdidos durante el proceso o disminuyan la percepción del sabor ácido inicial.

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

De acuerdo con los artículos analizados, se puede concluir que las características finales de las BPNL dependen de la composición inicial del sustrato y de la cepa utilizada durante el proceso; por lo tanto, se requiere un análisis específico de cada bebida probiótica no láctea. Los probióticos más empleados en

el desarrollo de este tipo de bebidas son *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *S. cerevisiae*, *S. boulardii* y *L. plantarum*. Cuando las BAL y las levaduras se utilizan como cocultivo, se ha observado un mayor tiempo de fermentación, aunado a una creciente viabilidad de ambos microorganismos. La sinergia entre cepas debe ser estudiada y puede variar con respecto al sustrato y las condiciones de fermentación. Los frutos, cereales, leguminosas y semillas suelen preferirse para la preparación de BPNL por su alto contenido de hidratos de carbono fermentables por probióticos, los cuales aseguran una viabilidad de 8 log UFC/mL después de la fermentación. Las BPNL se caracterizan por tener un pH inferior a 4.5 debido a la presencia de ácido láctico y acético, y a una disminución en la concentración de glucosa, fructosa y sacarosa. En cuanto al aroma y sabor, se ha reportado una gran variedad de compuestos volátiles como ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, cetonas y carbonilos que generalmente se asocian a aromas frutales y florales agradables.

El consumo de BPNL ha demostrado beneficios a la salud, debido a la presencia de compuestos antimicrobianos, hipocolesterolemiantes, antiinflamatorios y antioxidantes. Desde el punto de vista nutrimental, la fermentación incrementa el contenido de fibra, mejora la biodisponibilidad de proteínas, aporta ácidos grasos de cadena corta, incrementa la presencia de compuestos bioactivos y disminuye antinutrientes como fitatos. Sin embargo, el beneficio a la salud depende de la viabilidad de microorganismos al momento del consumo. Para asegurar la viabilidad de los microorganismos durante el almacenamiento, se ha optado por la adición de prebióticos, azúcares, extracto de levadura o proteínas vegetales que sirvan como fuente de carbono y nitrógeno durante el almacenamiento y la refrigeración, con lo que se logra una mayor viabilidad de los probióticos por hasta cuatro semanas.

AGRADECIMIENTOS

La autora Bernal-Pérez agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo otorgado para sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Alemneh, S. T., Emire, S. A. y Hitzmann, B. (2021). Teff-based probiotic functional beverage fermented with *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Foods*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods10102333>
- Alemneh, S. T., Emire, S. A., Jekle, M. y Hitzmann, B. (2022). Effect of refrigerated storage on some physicochemical characteristics of a teff-based fermented beverage and the viability of the fermenting *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactocaseibacillus rhamnosus* used. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(11), e17034. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17034>
- Angelescu, I. R., Zamfir, M., Stancu, M. M. y Grosu-Tudor, S. S. (2019). Identification and probiotic properties of *Lactobacilli* isolated from two different fermented beverages. *Annals of Microbiology*, 69(13), 1557-1565. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01540-0>
- Aparicio-García, N., Martínez-Villaluenga, C., Frias, J. y Peñas, E. (2021). Production and characterization of a novel gluten-free fermented beverage based on sprouted oat flour. *Foods*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/foods10010139>
- Arslan-Tontul, S. y Erbas, M. (2020). Co-culture probiotic fermentation of protein-enriched cereal medium (boza). *Journal of the American College of Nutrition*, 39(1), 72-81. <https://doi.org/10.1080/07315724.2019.1612796>
- Battistini, C., Gullón, B., Ichimura, E. S., Gomes, A. M. P., Ribeiro, E. P., Kunigk, L., Moreira, J. U. V. y Jurkiewicz, C. (2018). Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 303-309. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.08.006>
- Bernal-Castro, C. A., Díaz-Moreno, C. y Gutiérrez-Cortés, C. (2019). Inclusion of prebiotics on the viability of a commercial *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus* culture in a tropical fruit beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 987-994. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03565-w>
- Chavan, M., Gat, Y., Harmalkar, M. y Waghmare, R. (2018). Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. *LWT*, 91, 339-344. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.070>
- Cheng, Y., Wu, T., Chu, X., Tang, S., Cao, W., Liang, F., Fang, Y., Pan, S. y Xu, X. (2020). Fermented blueberry pomace with antioxidant properties improves fecal microbiota community structure and short chain fatty acids production in an in vitro mode. *LWT*, 125, 109260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109260>
- Cunha Júnior, P. C. da, Oliveira, L. de S. de, Blanco, J. C., Silva, M. T. de C., Gálvez, S. G. L., Rosenthal, A. y Ferreira, E. H. da R. (2022). Elaboration, characterization, and probiotic viability of synbiotic non-dairy drink based on coconut. *Ciência Rural*, 53. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210723>

- Cunha Júnior, P. C. da, Oliveira, L. de S. de, Gouvêa, L. de P., Alcantara, M. de, Rosenthal, A. y Ferreira, E. H. da R. (2020). Symbiotic drink based on Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* H. B. K): Production, characterization, probiotic viability and sensory acceptance. *Ciência Rural*, 51. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200361>
- Das, J., Datta, Z., Saha, A., Mohammad Nur, S., Barua, P., Rahman, M., Ahmed, K., Mostofa, M., Chowdhury, R. y Mannan, A. (2013). A comprehensive study on antioxidant, antibacterial, cytotoxic and phytochemical properties of Averrhoa carambola. *International Journal of Bioassays*, 02, 803-807.
- Di Cagno, R., Filannino, P., Cantatore, V., Polo, A., Celano, G., Martinovic, A., Cavoski, I. y Gobbetti, M. (2020). Design of potential probiotic yeast starters tailored for making a cornelian cherry (*Cornus mas* L.) functional beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 323, 108591. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108591>
- Di Cagno, R., Filannino, P., Vincentini, O., Cantatore, V., Cavoski, I. y Gobbetti, M. (2019). Fermented *Portulaca oleracea* L. juice: a novel functional beverage with potential ameliorating effects on the intestinal inflammation and epithelial injury. *Nutrients*, 11(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/nu11020248>
- FAO. (2001). *Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*.
- Ferreira, I., de Sousa Melo, D., Menezes, A. G. T., Fonseca, H. C., de Assis, B. B. T., Ramos, C. L., Magnani, M., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2022). Evaluation of potentially probiotic yeasts and *Lactiplantibacillus plantarum* in co-culture for the elaboration of a functional plant-based fermented beverage. *Food Research International*, 160, 111697. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111697>
- Fonseca, H. C., Melo, D. de S., Ramos, C. L., Menezes, A. G. T., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2022). Sensory and flavor-aroma profiles of passion fruit juice fermented by potentially probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* CCMA 0743 strain. *Food Research International*, 152, 110710. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110710>
- Freire, A. L., Ramos, C. L., da Costa Souza, P. N., Cardoso, M. G. B. y Schwan, R. F. (2017). Nondairy beverage produced by controlled fermentation with potential probiotic starter cultures of lactic acid bacteria and yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.011>
- Freitas, H. V., Dos Santos Filho, A. L., Rodrigues, S., Abreu, V. K. G., Narain, N., Lemos, T. D. O., Gomes, W. F. y Pereira, A. L. F. (2021). Synbiotic açai juice (*Euterpe oleracea*) containing sucralose as noncaloric sweetener: processing optimization, bioactive compounds, and acceptance during storage. *Journal of Food Science*, 86(3), 730-739. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15617>
- Gao, Y., Hamid, N., Gutierrez-Maddox, N., Kantono, K. y Kitundu, E. (2019). Development of a probiotic beverage using breadfruit flour as a substrate. *Foods*, 8(6), article 6. <https://doi.org/10.3390/foods8060214>
- Gerardi, C., Tristezza, M., Giordano, L., Rampino, P., Perrotta, C., Baruzzi, F., Capozzi, V., Mita, G. y Grieco, F. (2019). Exploitation of *Prunus mahaleb* fruit by fermentation with selected strains of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*, 84, 103262. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103262>
- Hatami, S., Tajabadi, N., Massoud, R. y Sharifan, A. (2021). Chemical and sensorial properties of probiotic beverage based on rice bran extract and honey. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01500-2>
- Ignat, M. V., Salanță, L. C., Pop, O. L., Pop, C. R., Tofană, M., Mudura, E., Coldea, T. E., Borșa, A. y Pasqualone, A. (2020). Current functionality and potential improvements of non-alcoholic fermented cereal beverages. *Foods*, 9(8), 1031. <https://doi.org/10.3390/foods9081031>
- Kokwar, M. A., Arya, S. S. y Bhat, M. S. (2022). A cereal-based nondairy probiotic functional beverage: an insight into the improvement in quality characteristics, sensory profile, and shelf-life. *Journal of Food Processing & Preservation*, 46(1), 1-12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16147>
- Lopusiewicz, L., Drożdowska, E., Trocer, P., Kostek, M., Bartkowiak, A. y Kwiatkowski, P. (2021). The development of novel probiotic fermented plant milk alternative from flaxseed oil cake using *Lactobacillus rhamnosus* GG acting as a preservative agent against pathogenic bacteria during short-term refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 266-276. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2021.v33.i4.2679>
- Maldonado, R. R., Araújo, L. da C., Dariva, L. C. da S., Rebac, K. N., Pinto, I. A. de S., Prado, J. P. R., Saeki, J. K., Silva, T. S., Takematsu, E. K., Tieni, N. V., Aguiar-Oliveira, E., Buosi, R. E., Deziderio, M. A. y Kamimura, E. S. (2017). Potential application of four types of tropical fruits in lactic fermentation. *LWT*, 86, 254-260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.005>
- Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A. y Plessas, S. (2019). Potential of the probiotic *Lactobacillus Plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice. *Foods*, 8(1), article 1. <https://doi.org/10.3390/foods8010004>
- Menezes, A. G. T., Ramos, C. L., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2018). Combination of probiotic yeast and lactic acid bacteria as starter culture to produce maize-based beverages. *Food Research International*, 111, 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.065>
- Mesquita, M. C., Leandro, E. dos S., de Alencar, E. R. y Botelho, R. B. A. (2020). Fermentation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and coconut (*Coccus nucifera* L.) beverages by *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81: the influence

- of sugar content on growth and stability during storage. *LWT*, 132, 109834. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109834>
- Mridula D. y Sharma, M. (2015). Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legume and soymilk. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 482-487. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.011>
- Muncey, L. y Hekmat, S. (2021). Development of probiotic almond beverage using *Lactocaseibacillus rhamnosus* GR-1 fortified with short-chain and long-chain inulin fibre. *Fermentation*, 7(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020090>
- Nguyen, B. T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A. T. M., Rezessy-Szabo, J. M., Prasad, R. y Nguyen, Q. D. (2019). Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Frontiers in Nutrition*, 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2019.00054>
- Oh, Y. J., Kim, T. S., Moon, H. W., Lee, S. Y., Lee, S. Y., Ji, G. E. y Hwang, K. T. (2020). *Lactobacillus plantarum* PMO 08 as a probiotic starter culture for plant-based fermented beverages. *Molecules*, 25(21), article 21. <https://doi.org/10.3390/molecules2521056>
- Palencia-Argel, M., Rodríguez-Villamil, H., Bernal-Castro, C., Díaz-Moreno, C. y Fuenmayor, C. A. (2022). Probiotics in anthocyanin-rich fruit beverages: Research and development for novel synbiotic products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1-17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2104806>
- Pereira, A. L. F., Feitosa, W. S. C., Abreu, V. K. G., Lemos, T. de O., Gomes, W. F., Narain, N. y Rodrigues, S. (2017). Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. *Food Research International*, 100, 603-611. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.055>
- Prado, F. C., Lindner, J. D. D., Inaba, J., Thomaz-Soccol, V., Brar, S. K. y Soccol, C. R. (2015). Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits. *Journal of Functional Foods*, 12, 489-497. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.020>
- Rasika, D. M. D., Vidanarachchi, J. K., Luiz, S. F., Azeredo, D. R. P., Cruz, A. G. y Ranadheera, C. S. (2021). Probiotic delivery through non-dairy plant-based food matrices. *Agriculture*, 11(7), article 7. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070599>
- Romero-Espinoza, A. M., Serna-Saldivar, S. O., Vintimilla-Alvarez, M. C., Brio-nes-García, M. y Lazo-Vélez, M. A. (2020). Effects of fermentation with probiotics on anti-nutritional factors and proximate composition of lupin (*Lupinus mutabilis* sweet). *LWT*, 130, 109658. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109658>
- Santos, C. C. A. do A., Libeck, B. da S. y Schwan, R. F. (2014). Co-culture fermentation of peanut-soy milk for the development of a novel functional beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 186, 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.011>
- Trung, V. T., Van Huynh, T., Thinh, P. D., San, P. T., Bang, T. H. y Hang, N. T. (2021). Probiotic fermented beverage from macroalgae. *Natural Product Communications*, 16(12), 1934578X211066145. <https://doi.org/10.1177/1934578X211066145>
- Väkeväinen, K., Hernández, J., Simontaival, A. I., Severiano-Pérez, P., Díaz-Ruiz, G., von Wright, A., Wachter-Rodarte, C. y Plumed-Ferrer, C. (2020). Effect of different starter cultures on the sensory properties and microbiological quality of *Atole agrio*, a fermented maize product. *Food Control*, 109, 106907. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106907>
- Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J. J. y Frutos, M. J. (2020). Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients*, 12(6), article 6. <https://doi.org/10.3390/nu12061666>
- Vila-Real, C., Pimenta-Martins, A., Mbugua, S., Hagrétou, S. L., Katina, K., Maina, N. H., Pinto, E. y Gomes, A. M. P. (2022). Novel synbiotic fermented finger millet-based yoghurt-like beverage: nutritional, physicochemical, and sensory characterization. *Journal of Functional Foods*, 99, 105324. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105324>

- Wacoo, A. P., Mukisa, I. M., Meeme, R., Byakika, S., Wendi, D., Sybesma, W. y Kort, R. (2019). Probiotic enrichment and reduction of aflatoxins in a traditional african maize-based fermented food. *Nutrients*, 11(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/nu11020265>
- Wang, R., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B. y Liu, S. Q. (2022). Green tea fermentation with *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. *LWT*, 157, 113081. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113081>
- Watanabe, F. M. F., Marques, C., Farias, F. O., Ellendersen, L. N. y Masson, M. L. (2020). Yacon-based beverage as non-dairy vehicle for *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*: stability and *In vitro* probiotic viability. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(4), 11458-11472. <https://doi.org/10.33263/BRIAC114.1145811472>
- Wu, Y., Li, S., Tao, Y., Li, D., Han, Y., Show, P. L., Wen, G. y Zhou, J. (2021). Fermentation of blueberry and blackberry juices using *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium bifidum*: growth of probiotics, metabolism of phenolics, antioxidant capacity *in vitro* and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 348, 129083. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129083>
- Yan, Y., Zhang, F., Chai, Z., Liu, M., Battino, M. y Meng, X. (2019). Mixed fermentation of blueberry pomace with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: enhance the active ingredient, antioxidant activity and health-promoting benefits. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110541. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.049>
- Zamfir, M., Angelescu, I. R., Voaides, C., Cornea, C. P., Boiu-Sicuia, O. y Grosu-Tudor, S. S. (2022). Non-dairy fermented beverages produced with functional lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122314>
- Zhao, C.-M., Du, T., Li, P., Du, X. J. y Wang, S. (2021). Production and characterization of a novel low-sugar beverage from red jujube fruits and bamboo shoots fermented with selected *Lactiplantibacillus plantarum*. *Foods*, 10(7), article 7. <https://doi.org/10.3390/foods10071439>

Retos y oportunidades en el diseño y optimización de emulsiones alimentarias

Regina Navarrete González* y Enrique Palou García

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

Correos electrónicos: regina.navarretegz@udlap.mx • enrique.palou@udlap.mx

Navarrete González, R. y Palou García, E. (2024). Retos y oportunidades en el diseño y optimización de emulsiones alimentarias. *TSIA*, 18.



RESUMEN

El presente artículo comprende una revisión de los avances en el diseño de alimentos desde un enfoque de optimización. El estudio se centra en los alimentos formados mediante sistemas de emulsión y focaliza la revisión bibliográfica en las distintas aplicaciones que presentan la ciencia de las emulsiones, que abarcan las emulsiones múltiples, las multicapa, los sistemas HIPE (*high internal phase emulsion*), las microemulsiones y las nanoemulsiones.

Asimismo, el presente artículo destaca la importancia de seleccionar el tipo de diseño, desde un sistema prueba y error hasta los métodos híbridos que integran modelos matemáticos de optimización y algoritmos predictivos mediante herramientas computacionales denominadas CAMD (*computer-aided methodology design*). Al centrar los elementos (proporciones, parámetros fisicoquímicos de ingredientes e ingredientes activos), es posible optimizar el diseño de alimentos, ya sea por el diseño de mezclas que integraría la optimización estadística o de manera híbrida; esto permite diseñar emulsiones alimentarias mediante modelos matemáticos predictivos de simulación teórica que ofrecen ventajas respecto al diseño de prueba y error. Esta alternativa permite, además, reducir el número de experimentos, la cantidad de insumos, optimizar la funcionalidad de los ingredientes claves y, por último, reducir los costos que implica la innovación de emulsiones alimentarias.

Palabras clave: Diseño de mezclas, ecuaciones matemáticas, sistemas de dispersión.

ABSTRACT

This article includes a review of the developments in food design from a mathematical point of view, it focuses on foods formed by emulsion systems, review on the different applications or variants that emulsions present, being multiple emulsions, multilayer, (HIPE: High Internal Phase Emulsion) and nanoemulsions.

This article highlights the importance in the selection of the type of design, from a trial and error system to those hybrid methods that integrate mathematical optimization models and predictive algorithms through computational tools called CAMD (Computer-aided methodology design) as a hybrid method, which distinguish the elements that structure a food emulsion, among them: the ingredients, the functionality that is given to the applications and the physicochemical properties associated with these systems. By integrating these elements, food design can be optimized either by the design of mixtures integrating statistical optimization or in an integral way, designing food emulsions using predictive mathematical models that simulate theoretically, offering an advantage over trial-and-error design. This alternative also allows reducing the number of experiments, reducing the number of resources, optimizing the functionality of the key ingredients and finally allows reducing the costs that mean the innovation of food emulsions.

Keywords: Emulsions, design, optimization, mathematic models.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la industria alimentaria enfrenta diversos retos asociados a la alimentación de la población mundial de una manera segura, inocua, saludable y sustentable, ante un panorama de sobrepoblación, malnutrición y una sociedad de consumo acelerado. Estos desafíos pueden abordarse a nivel tecnológico desde el inicio de la cadena alimentaria, por ejemplo, con la actividad del diseño de alimentos, que intenta responder a esas necesidades de alimentación, donde los tecnólogos en alimentos deben ofrecer, a una velocidad acelerada, alternativas en la formulación de alimentos, en las técnicas de manufactura y en los procesos hacia la sustentabilidad. En este sentido la optimización de recursos, ya sea ingredientes, tiempos, combustibles, personas, procesos o costos, juega un papel central.

Ante ello, puede ubicarse a la innovación de alimentos bajo la óptica de formulación por optimización, donde el diseño integral no solo la parte experimental, sino también la incorporación de modelos matemáticos que permitan describir las propiedades fisicoquímicas de los ingredientes, sus interacciones y las respectivas limitantes, evaluando el margen de error en la formulación y su aplicabilidad hacia el consumidor final, en respuesta a la actual oferta y demanda de la sociedad.

Este enfoque en la optimización matemática podría ampliarse a múltiples sectores de la industria alimentaria en sus diversas categorías; sin embargo, este artículo centra su atención en el sector de las emulsiones alimentarias, al ser una categoría poco estudiada. Si bien hoy en día se comercializan con éxito diferentes productos (leche en polvo, salsas, aderezos, postres, coberturas y complementos semisólidos), es posible ampliar la innovación en la formulación de estas emulsiones hacia otras aplicaciones alimentarias. Desde la diversificación de los componentes a utilizar y la optimización de su aplicabilidad tecnológica, es posible describir los sistemas de dispersión a partir de sus componentes y sus respectivas propiedades fisicoquímicas

(por ejemplo, el uso de polisacáridos o péptidos proteicos como agentes emulgentes). Otra variante consiste en la modificación intencionada de la estructura de dichas emulsiones respecto al tamaño y la forma de los sistemas, clasificándolos como microemulsiones, nanoemulsiones, emulsiones de alta fase interna, nanopartículas de lípidos sólidos, liposomas y biopolímeros de micro gel, siendo cada una de estas modificaciones una categoría de emulsiones con múltiples aplicaciones comerciales o tecnológicas.

Es destacable el trabajo de tecnólogos de alimentos que suman esfuerzos para ofrecer esta alternativa de solución a problemáticas de salud mediante emulsiones alimentarias, con aplicaciones como sistemas de emulsión múltiple, denominados dispersiones bifásicas, que pueden ayudar a reducir los niveles de nutrientes no deseados (como grasas saturadas, exceso de sal y azúcar), orientando la oferta hacia alimentos para personas con enfermedades como hipertensión o diabetes. Otro ejemplo, son los sistemas coloidales (nanoemulsiones), que permiten una liberación controlada de ingredientes bioactivos (o nutracéuticos), respondiendo a estímulos biológicos focalizados (por ejemplo, la encapsulación de vitaminas y minerales que no son solubles en un alimento de manera nativa). Un tercer ejemplo corresponde al diseño de sistemas coloidales complejos que pueden ayudar a garantizar la seguridad de los alimentos; algunos sistemas diseñados con especificidad pueden modificar la interacción alimento-tracto digestivo (incluida la percepción oral, el control de la saciedad y la inaccesibilidad de micronutrientes), lo cual resulta relevante en personas con trastornos alimentarios como obesidad o anemia.

En este nicho tecnológico del diseño de emulsiones alimentarias surge la necesidad de abordar un estudio amplio. El objetivo de esta revisión es analizar el avance tecnológico desde una óptica matemática; entender qué tipo de diseños de mezclas estadísticas se han utilizado en los últimos años, qué ecuaciones matemáticas se han aplicado, cómo se integran estas

metodologías híbridas y qué ventajas presentan respecto al diseño experimental, así como las estrategias de innovación empleadas en su manufactura.

1. Avances del diseño de alimentos en las últimas décadas

Esta época se caracteriza por un crecimiento significativo de la población mundial, con tendencias demográficas al alza. Esto implica que las organizaciones gubernamentales requieren, con premura, generar políticas públicas y programas sociales para reducir el hambre en el mundo, así como hacer frente a las enfermedades asociadas a la alimentación. En este sentido, el diseño de alimentos, desde su concepción, formulación y proceso, ha evolucionado a la par del crecimiento poblacional (Floros *et al.*, 2010). Ante ese desafío, los departamentos responsables de la innovación en las industrias alimentarias se ven presionados para desarrollar nuevos productos en respuesta a las demandas del mercado, reducir el impacto ambiental, cumplir con la legislación pertinente y optimizar los costos productivos, donde las materias primas son uno de los factores económicos relevantes (Granato y Ares, 2014; Musina *et al.*, 2017; Sijtsema *et al.*, 2020).

Una formulación alimentaria implica el cálculo de los ingredientes en proporciones adecuadas para ofrecer un producto de calidad. Si bien el cálculo manual fue una técnica utilizada, en la actualidad muchas propuestas se desarrollan mediante programas estadísticos y, en su caso, bajo un enfoque de optimización, con el objetivo de reducir tiempos y costos en esta tarea exhaustiva, en el cual la mano de obra humana sigue siendo un factor clave y, en algunos casos, un factor de ahorro en recursos (Granato y Ares, 2014; Calvo *et al.*, 2022).

Ante ello, los métodos estadísticos, también conocidos como diseño de experimentos, abarcan la formulación conceptual de mezclas por diversas técnicas, como el *full factorial* y los diseños de mezclas por denominador combinatorio. En el caso de la optimización de fórmulas, usualmente enfocada en

maximizar los nutrientes del alimento, los métodos más utilizados son la metodología de superficie de respuesta y el arreglo ortogonal de Taguchi, ya que minimizan el número de experimentos y ofrecen un modelo numérico que permite optimizar la variable de respuesta (Musina *et al.*, 2017).

El diseño de experimentos se basa en definir un objetivo principal (generalmente el ahorro de recursos). De acuerdo con Leardi R. (2013), se determinan los factores que afectan al alimento, se genera un plan de experimentos y se analizan los resultados para obtener las condiciones óptimas de formulación (Buruk Sahin *et al.*, 2016). Estos métodos, presentados de forma canónica como ecuaciones lineales, cuadráticas o cúbicas, permiten identificar coeficientes (b_1 , b_2), factores evaluados (x_1 , x_2) e interacciones (x_1x_2), como se muestra en la ecuación 1, en función de la respuesta objetivo-planteada:

$$y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 + b_{21}x_1x_2$$

Ecuación 1.

A partir de estas ecuaciones matemáticas resultantes, es posible identificar dos tipos de diseño de mezclas: el látex simple (definido por rango r/m con un grado polinomial) y los diseños simples centrales (definidos como $1/q$, donde q representa cada componente en la mezcla). Dependiendo del grado de factores y las interacciones resultantes, se evalúa el tipo de representación gráfica más adecuado; en muchos casos, resulta más comprensible utilizar una superficie de respuesta para evaluar las condiciones óptimas. Cabe destacar que el diseño de mezclas es parte de las herramientas computacionales denominadas *chemometrics* (Einax *et al.*, 2007; Leardi R., 2013).

Un estudio sobre el avance en el diseño de mezclas alimentarias realizado por Squeo *et al.* (2021) analiza diez años de informes científicos (2011-2021), con una base de 420 artículos,

utilizando como criterios de búsqueda «ciencia y tecnología de alimentos» y «biotecnología aplicada». El análisis identifica los diseños de experimentos más reportados y las categorías de alimentos asociadas (mencionadas en la tabla I). Se destaca el diseño D-óptimo como el más frecuente (25 %), seguido

del diseño central compuesto (23 %) y el diseño látex simple (21 %). Asimismo, se observa como limitante el uso de hasta seis componentes en las mezclas reportadas, debido al incremento en la complejidad, siendo la mezcla de tres componentes el denominador común.

Tabla I. Diseños experimentales orientados a la optimización de mezclas

Producto alimentario	Factores	Diseño de experimentos	Referencia
Bebida fermentada de avena	Mezcla de avena (60-70 %), lupino (25-10 %) y hojas de nettle (5-15 %)	D-Óptimo	Alemayehu <i>et al.</i> (2022)
Cerveza con mezcla de lúpulo	Mezcla de granos enteros con variantes de lúpulo (seco y húmedo)	Diseño simple-látex de cuarto grado	Lafontaine y Shellhammer (2018)
Bebida a base de suero de leche	Mezcla de suero con jarabe iraní en propiedades de viscosidad, consistencia y aceptabilidad de bebida	Superficie de respuesta	Zendeboodi <i>et al.</i> (2018)
Yogur simbiótico suplementado	Mezcla de lactobacilos en medio de leche con harina libre de gluten y niveles de concentración de inóculo y temperatura	Diseño simple-central	Bevilacqua <i>et al.</i> (2019)
Jugo de verduras con alto contenido de polifenoles	Mezcla de proporción de polvo de brócoli, zanahoria y calabaza, efecto de actividad antioxidante, contenido fenólico y aceptabilidad	Superficie de respuesta	Kim <i>et al.</i> (2017)
Jugo de frutas con bajo aporte calórico	Proporciones de naranja, piña y persimón en efecto de sólidos totales, acidez, color y capacidad antioxidante	Diseño simple-central y análisis de componentes principales	Curi <i>et al.</i> (2017)
Bebida con alta capacidad antioxidante	Mezcla de extracto de jamaica con zanahoria, piña y naranja sobre la capacidad antioxidante, contenido de ácido ascórbico y aceptabilidad	Superficie de respuesta	Ogundele <i>et al.</i> (2016)
Bebida fermentada de harina de fruta	Proporción de fruta en polvo y azúcar sobre efecto de UFC de inóculo, pH, acidez titulable y concentración de azúcar	D-Óptimo	Gao <i>et al.</i> (2019)
Hamburguesas de cordero	Mezcla de CMC e inulina en hamburguesas de cordero sobre efectos de textura, color, diámetro de reducción y aceptabilidad	Diseño simple-látex de cuarto grado	Guedes-Oliveira <i>et al.</i> (2019)
Salchichas fermentadas	Mezcla de fibra dietética, almidón y celulosa en reducción de porcentaje de grasa y sales sobre efectos de textura, ácido láctico y actividad de agua	Diseño de mezclas simple-central	Santos <i>et al.</i> (2021)

Tabla 1. Diseños experimentales orientados a la optimización de mezclas (continuación)

Producto alimentario	Factores	Diseño de experimentos	Referencia
Mermelada a base de frutas regionales	Mezcla de frutas: tincozi, tineyi y umfomfo en siete formulaciones combinatoriales sobre evaluación sensorial, pH, actividad de agua y sólidos totales	Diseño de mezcla simple-látex	Dlamini et al. (2019)
Goma de mascar a base de cúrcuma	Efecto de la mezcla de goma de mascar en propiedades de cohesividad, compresibilidad, extensibilidad y masticabilidad	D-Óptimo	Al Hagbani et al. (2018)
Pan libre de gluten	Efecto de la mezcla goma xantana, guar e hidropiril metilcelulosa en receta de pan (quinoa, maíz y arroz) sobre propiedades de textura, reología y densidad	D-Óptimo	Encina-Zelada et al. (2019)
Uso de goma a partir de semilla basil como estabilizante de helado	Evaluar mezcla de goma de semilla basil, CMC y goma guar sobre efectos de overrun, viscosidad, punto de fusión y evaluación sensorial	Diseño de mezclas simple-central	Bahram Parvar et al. (2015)

Fuente: elaboración propia con información de Galván et al. (2021).

Por otra parte, el estudio de Galván et al. (2021) evalúa las categorías de alimentos que emplean diseño de experimentos como metodología matemática de formulación y experimentación. En la tabla I, la información se divide en bebidas y alimentos, con subcategorías específicas (bebidas alcohólicas, lácteas, jugos, entre otros; así como productos de origen animal, vegetal, panadería, lácteos y mermeladas). En todos los casos se identifican procesos de optimización asociados a propiedades funcionales de los ingredientes. En la categoría de alimentos, el número de optimizaciones corresponde a estos porcentajes de estudio: productos de panadería (25 %), jugos (24 %), productos cárnicos (15 %), y solo un 13 % en productos emulsionados como salsas y aderezos (Squeo et al., 2021).

Uno de los casos más reportados es el uso de mezcla de harinas para sustituir el gluten y conservar las propiedades de textura que caracterizan al sector de panadería. Asimismo, destaca la optimización de ingredientes activos, en específico el uso de hidrocoloides como la goma guar o goma xantana, aplicados en mezclas que maximizan la textura y otros atributos sensoriales y de aceptación (Encina-Zelada et al., 2019; Ataei Nukabadi et al., 2021; Difonzo et al., 2021).

Sin embargo, de acuerdo con el estudio, la subclasificación de alimentos tipo emulsión representa una minoría de estudio, lo que evidencia una oportunidad de profundizar en la ciencia de emulsiones, sus tipos y los enfoques de diseño utilizados en estos sistemas de dispersión, ante la limitada optimización reportada de emulsiones alimentarias.

2. Tendencias en diseño y funcionalidad de los sistemas de emulsión

En la clasificación de alimentos, una emulsión puede definirse como una dispersión termodinámicamente inestable de dos líquidos inmiscibles, normalmente de naturaleza apolar y polar, en la que uno de ellos forma gotas de pequeño tamaño (de 0.1 a 100 micras), denominada fase dispersa o interna, mientras que el otro constituye la fase continua o externa (Tan y McClements, 2021). En la práctica, debe contener un tercer componente: un emulgente, sustancia anfifílica que facilita la formación de la emulsión al disminuir la tensión interfacial entre la fase apolar (oleosa) y la polar (acuosa), y que además aporta cierta estabilidad física durante un tiempo. Dependiendo de la naturaleza de las fases dispersa y continua, en una

primera clasificación pueden identificarse las emulsiones O/W (aceite disperso en agua) y, de forma inversa, W/O (agua dispersa en aceite), así como emulsiones múltiples del tipo W/O/W y O/W/O.

Por otra parte, las dispersiones coloidales se pueden clasificar en función de su tamaño de partícula en macroemulsiones convencionales, microemulsiones y nanoemulsiones (Nikma-ram *et al.*, 2017). Una segunda clasificación engloba algunas emulsiones consideradas avanzadas, como las emulsiones multicapa, las nanopartículas sólidas lipídicas y las emulsiones de alta fase interna o, por sus siglas en inglés, sistemas HIPE (*high internal phase emulsion*). Estos sistemas presentan atributos de mejora tecnológica, entre ellos, reducción de la ingesta calórica, disminución de compuestos lipídicos no deseados, encapsulación y posterior solubilidad de compuestos nutrimentales inmiscibles de manera nativa y aumento controlado de la biodisponibilidad de componentes bioactivos en el tracto gastrointestinal humano, en ingredientes que no son solubles de manera convencional (Tan y McClements, 2021). A continuación, se presentarán los casos específicos de emulsiones múltiples, emulsiones de alta fase interna y nanoemulsiones.

2.1. Emulsiones múltiples

Las emulsiones múltiples, también conocidas como emulsiones dúplex, consisten en una fase acuosa interna (W₁) dispersa en forma de pequeñas gotas dentro de gotas de aceite más grandes (O), las cuales, a su vez, se dispersan en una fase de agua exterior (W₂). Estas estructuras aportan características físicas con bajo contenido de grasa sin limitar la apariencia, la textura ni la sensación en boca. Por ello, pueden utilizarse con dos propósitos en las formulaciones alimentarias: en primer lugar, como sustituto de grasa, al encapsular las partículas intermedias oleosas y reducir su porcentaje en el sistema; en segundo lugar, como sistemas

de encapsulación de compuestos bioactivos hidrófobos (antocianinas, resveratrol, fitoesterol, vitaminas B, E y D), que pueden liberarse durante el proceso digestivo bajo efectos mecánicos o cambios de pH y temperatura (Muschiolik y Dickinson, 2017). Estos sistemas, al igual que las emulsiones simples, presentan una metaestabilidad coloidal y son susceptibles a fenómenos de floculación de gotas, la coalescencia, la maduración de Ostwald y la sedimentación, por lo que se consideran sistemas relativamente inestables.

Asimismo, presentan dos interfaces O/W distintas, lo que requiere diferentes tipos de emulsionantes (Leister y Karbstein, 2020). Por tanto, la formulación de emulsiones dobles implica una selección sinérgica de estabilizantes y sustancias surfactantes. El componente lipofílico suele ser el polirricinoleato de poliglicerol (PGPR), utilizado en un rango de 4 a 6 % en peso, aunque algunos estudios reportan optimizaciones de hasta 1.25 % en peso; este se combina con un emulgente hidrófilo como Tween (monooleato de sorbitán de polietileno), disuelto en la fase W₂ (Muschiolik y Dickinson, 2017). Diversos autores han estudiado la optimización de emulsiones múltiples mediante el uso de emulgentes lipofílicos e hidrofílicos para maximizar la estabilidad de los sistemas (índices superiores al 85 %). Uno de los objetivos tecnológicos es encapsular sustancias bioactivas y mantener a los sistemas estables (Zhu *et al.*, 2019).

Dentro de esta formulación de sistemas dúplex, las emulsiones multicapa son aplicaciones diseñadas con base en el método de deposición electrostática (LBL), que consiste en pequeñas gotas de aceite recubiertas por múltiples capas de polielectrolitos formadas a partir de biopolímeros con cargas opuestas, que generan esta interacción electrostática en cada capa (Guzey y McClements, 2006).

Se han propuesto múltiples interacciones entre proteínas y polisacáridos para ensamblar esas dispersiones multi-

capa. Generalmente, la primera capa se estructura con proteínas (ovoalbúmina, proteína sérica y lactoferrina), debido a su interacción anfifílica, mientras que las capas posteriores se conforman con polisacáridos (goma arábiga, alginato y pectinas), que aportan la repulsión electroestática.

El uso sinérgico de proteínas y polisacáridos representa un reto de optimización en la formación de biopolímeros mediante diversas mezclas, donde las variables de respuesta afectan la capacidad de concentración de gotas, la fuerza iónica, el pH y la estabilidad del sistema formado. Una aplicación altamente reportada en este diseño por optimización es la encapsulación de antioxidantes y metabolitos lipofílicos de alto interés nutricional (Chung y McClements, 2014).

2.2. Emulsión de alta fase interna (HIPE)

La emulsión de alta fase interna (HIPE) representa una alternativa a las emulsiones convencionales W/O, principalmente en el sector alimentario de las grasas, donde se posiciona como una posibilidad para crear texturas sólidas en alimentos grasos y ofrecer un sustituto a los aceites parcialmente hidrogenados (Tan y McClements, 2021).

Se destacan por su alta concentración de la fase dispersa, constituida por partículas empaquetadas que exceden el límite de fase (ϕ) de 0.74 (relación volumen-volumen). En estos sistemas, la fase dispersa se organiza de manera altamente ordenada, dejando un espacio mínimo de movimiento entre cada partícula; mientras que la fase externa actúa como una película líquida. Este grado de organización estructural limita la movilidad de las partículas dispersas, lo que confiere al sistema una elevada viscosidad y una consistencia semisólida (Okuro *et al.*, 2019). Estas emulsiones suelen ser metaestables en función del tiempo, ya que son susceptibles a la reversión de fases sin la selección del emulgente adecuado. En este sentido, la formu-

lación depende en gran medida de las propiedades fisicoquímicas del emulgente, que debe presentar alta humectabilidad y un ángulo de contacto trifásico cercano a 90°, esto para garantizar el empaquetamiento de partículas. Asimismo, debe mostrar una afinidad al sistema y capacidad de inhibir la coalescencia o floculación de las partículas de grasa (Bai *et al.*, 2021; Tan y McClements, 2021).

El diseño y optimización de emulgentes capaces de formar sistemas HIPE han sido producto de múltiples estudios (Dai L. *et al.*, 2019; Huang X. N. *et al.*, 2019), desde el enfoque interacción polisacárido-proteína, hasta el diseño de compuestos de grado alimenticio. Entre las formulaciones desarrolladas se encuentran sistemas gliadina-goma arábiga (extraído del gluten de trigo), diversos polisacáridos de celulosa con proteína de soya y el complejo proteína-zeína, alginato de propilenglicol y ramnolípidos (Zhou *et al.*, 2018). Estos complejos suelen formarse mediante la técnica de microfluidización, alcanzando volúmenes de concentración superiores al 70 %. El enfoque de estos estudios se centra en la manipulación del autoensamblaje interfacial y el empaque de partículas compuestas mediante simulaciones computacionales (*in silico*), lo que permite la formación de una red de gotas de aceite en 3D que promueve la formación de sistema HIPE con fuerte viscoelasticidad, tixotropía y estabilidad al almacenamiento.

Esta aplicación tecnológica permite ofrecer emulsiones semisólidas, estables ante separación física, con una textura gel, ampliamente aceptada en productos como aderezos, salsas, complementos *dip* y mayonesas, con capacidad de reemplazar moléculas de grasa.

2.3. Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones, también denominadas emulsiones ultrafinas o submicrónicas, se caracterizan por presentar tamaños de

gota en el rango de 20 a 200 nm, así como una distancia reducida entre partículas (Solans *et al.*, 2005). Estos sistemas son definidos como dispersiones coloidales termodinámicamente estables e isotrópicas, compuestas de agua, aceite, tensoactivos o cotensoactivos. Debido a su tamaño de partícula, presentan alta transparencia y baja viscosidad (Hong *et al.*, 2020). En esta escala nanométrica, las nanoemulsiones ofrecen múltiples funcionalidades en la formulación y optimización de alimentos, particularmente en la incorporación de ingredientes activos en recubrimientos comestibles diseñados para extender la vida útil de los alimentos. De igual manera, permiten mejorar la inaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos bioactivos hidrófobos (Tan y McClements, 2021). Como resultado de estas aplicaciones, los métodos más utilizados en su manufactura incluyen la sonicación, la homogenización de alta presión, la microfluidización, la emulsificación de fase inversa o emulsificación espontánea. La elección del método influye directamente en la calidad del producto final (Tan y McClements, 2021).

La formulación de nanoemulsiones depende del método de manufactura, ya que debe evitarse el uso excesivo de emulgentes y estabilizantes que puedan generar sabores residuales y aumenten los costos productivos (Tan y McClements, 2021).

Diversos estudios (Qian *et al.*, 2012; Mehmood *et al.*, 2018) utilizan modelos matemáticos para desarrollar y optimizar el análisis fisicoquímico de las nanoemulsiones alimentarias, principalmente la estabilidad coloidal mediante el diagrama promedio de partícula y el potencial zeta del sistema, los cuales permiten definir la estabilidad. Asimismo, se considera la influencia del tamaño de partícula en parámetros farmacocinéticos y la absorción en el tracto gastrointestinal, como lo reportan Cortés-Ríos *et al.* (2020).

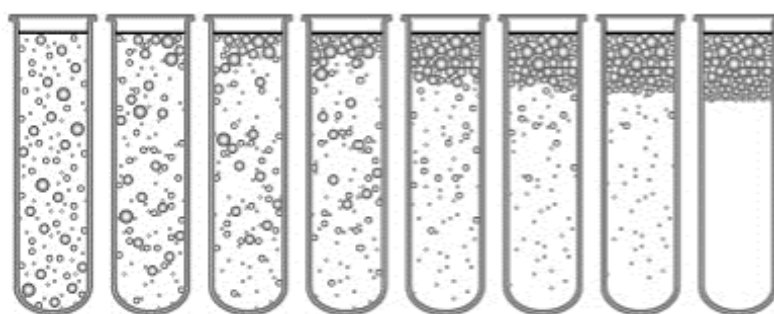
Los modelos más utilizados incluyen modelos de superfi-

cie de respuesta, el diseño central compuesto y el diseño Box-Behnken. En casos donde estos modelos no presentan un ajuste adecuado, se emplean diseños óptimos. Este último modelo matemático fue estudiado por Safaya y Rotliwala (2020), quienes lograron una nanoemulsión múltiple W/O/W para encapsular extracto de polen mediante un modelo matricial, mejorando la baja biodisponibilidad del compuesto bioactivo en su forma independiente, su escasa calidad sensorial y optimizando las propiedades del tamaño y distribución de partícula e inestabilidad química.

2.4. Propiedades fisicoquímicas que describen las emulsiones

Al abordar la diversificación de dispersiones alimentarias, como nanoemulsiones, emulsiones múltiples, entre otras, se requiere entender a profundidad estos sistemas desde su caracterización fisicoquímica, tanto en su macroestructura como en su microestructura, ya que estos factores influyen en la estabilidad global del sistema, en su aplicación alimentaria y, a su vez, en su diseño basado en la optimización.

Sobre el estudio de la microestructura, uno de los parámetros más estudiados es el tamaño de gota y su distribución, ya que se ha demostrado que este factor puede favorecer fenómenos de desestabilización como la floculación, el cremado, la coalescencia o la sedimentación. Además, influye en las propiedades sensoriales y funcionales de estos sistemas (Hu *et al.*, 2017). De manera gráfica, la desestabilización de las emulsiones puede observarse en la figura 1; dichos fenómenos pueden presentarse si el diseño de la formulación no es seleccionada correctamente. Por tanto, la selección correcta del surfactante o sustancia emulgente es el factor determinante de la estabilidad, al ser capaz de inhibir estos fenómenos de separación (coalescencia, floculación y sedimentación).

**Figura 1.**

Fenómenos físicos de inestabilidad en sistemas de emulsión. Adaptada de Tan y McClements (2021).

El tamaño de gota está directamente influido por la concentración de la fase dispersa y la presencia del surfactante. Otros factores adicionales incluyen la homogenización del sistema, es decir, la fuerza mecánica aplicada y la concentración del componente surfactante. Algunos estudios han reportado el uso de ultrasonido de alta potencia y homogenización de alta presión para maximizar la formación de emulsiones a escala nanométrica y favorecer la estabilidad cinética (Artigas *et al.*, 2019).

Por otra parte, el estudio reológico de las emulsiones resulta fundamental y depende del tipo de ingredientes utilizados, de las interacciones de cargas electroquímicas, del pH, de las concentraciones utilizadas y de las interacciones partícula-partícula, así como del tamaño molecular, los mecanismos de interacción y la presencia de surfactantes (Goralchuk y Riabets, 2019). Asimismo, la estabilidad de la emulsión es afectada por fenómenos de floculación cuando la viscosidad se encuentra en valores altos (Hu *et al.*, 2017).

Las propiedades reológicas pueden describirse mediante múltiples ecuaciones matemáticas que parten de la ley de Stokes y la ecuación Krieger-Dougherty, las cuales predicen la microes-

tructura y viscosidad de una emulsión. Dado que la viscosidad depende de la temperatura, es necesario reportar las condiciones de temperatura al estimar parámetros tales como el módulo elástico, el estrés de fractura, la fuerza de fractura, el esfuerzo cortante y la velocidad de corte, los cuales describen el comportamiento reológico de estos sistemas (Bourne, 1975; Hu *et al.*, 2017).

Entre las propiedades adicionales que se estudian en la macroestructura de las emulsiones se incluye la densidad, como medida directa para determinar el volumen de la fase dispersa; la conductividad eléctrica del componente mayoritario de la emulsión; la cristalinidad de partículas mediante un perfil calorimétrico diferencial de barrido. De igual manera, la morfología de estos sistemas puede caracterizarse mediante microscopía electrónica de barrido o microscopía óptica (Chung y McClements, 2014).

3. Métodos de diseño y optimización de emulsiones

De acuerdo con los avances en la ciencia de las emulsiones, estos sistemas presentan un amplio espectro de aplicaciones en

diferentes sectores más allá de la industria alimentaria, como el cosmético, petroquímico, farmacéutico, biotecnológico y nanotecnológico (Calvo *et al.*, 2022).

El diseño de emulsiones puede abordarse desde dos enfoques principales: uno basado en experimentos (prueba y error), apoyado en herramientas como el diseño de mezclas (DM), y otro basado en modelos matemáticos (Torres *et al.*, 2020).

En este contexto, el proceso de diseño de emulsiones se ha vuelto progresivamente más crítico, ya que la industria se está moviendo con velocidad hacia la producción de productos orientados al consumidor y de bajo costo (Kalakul *et al.*, 2018). En el ámbito alimentario, el diseño de emulsiones implica la creación de formulaciones y mezclas capaces de satisfacer las necesidades nutrimentales del consumidor final. Si bien los diseños experimentales (diseños factoriales, método de superficie de respuesta, arreglos ortogonales de Taguchi y diseños mixtos) se utilizan ampliamente para optimizar las formulaciones, la tendencia actual se orienta hacia enfoques integrales que incorporan métodos heurísticos, principios combinatoriales, diseño asistido por computadora y aproximaciones *in silico* (Musina *et al.*, 2017).

Un enfoque basado en modelamiento matemático permite analizar una emulsión desde su dimensión microscópica y macroscópica, convirtiendo el proceso de diseño en un sistema multifactorial y no solo técnico, inherente a la formulación (Torres *et al.*, 2020). Además, este método contribuye a una manufactura de menor costo productivo y permite ampliar la oferta de productos al mercado comercial con mayor velocidad al reducir los experimentos que requieren mayor tiempo en las primeras etapas del diseño, así como recursos para desarrollar los productos (Kalakul *et al.*, 2018).

3.1. El diseño asistido por computadora

Los métodos de diseño de formulaciones (mezclas) asistidos por computadora CAMD plantean la principal ventaja de gene-

rar y evaluar rápidamente miles de ingredientes candidatos, así como estimar un gran número de propiedades fisicoquímicas. Esto permite seleccionar un conjunto reducido de ingredientes viables para su posterior verificación y refinamiento mediante experimentación instrumental (Kalakul *et al.*, 2018).

La metodología CAMD se basa en la identificación del problema de diseño, el cual se descompone en una secuencia de subproblemas. A medida que se avanza de niveles externos a internos, el proceso consta de tres fases. La primera, relacionada con la definición del problema, involucra la recopilación de datos referentes al consumidor, la calidad esperada, la oferta de mercado, encuestas, patentes y lo sucedáneo para establecer los atributos esperados de la formulación. En el ámbito alimentario, esta etapa requiere una recopilación integral de múltiples fuentes; su entregable es el desarrollo de un algoritmo que rige la formulación en términos de sus componentes (Mattei, 2014).

La segunda fase referente al modelamiento matemático es delimitada por las restricciones inherentes al producto final, tanto en términos de las expectativas del consumidor como de las propiedades fisicoquímicas asociadas. La tercera fase consiste en la validación experimental de las etapas previas, con el objetivo de obtener un prototipo final en menor tiempo (Kontogeorgis *et al.*, 2022).

En la fase de modelado matemático existen dos enfoques principales en el diseño de algoritmos para estos sistemas: los modelos basados en heurísticas y aquellos fundamentados en programación matemática (Mattei *et al.*, 2013).

La primera clasificación, correspondiente a técnicas heurísticas o basadas en reglas restrictivas, define el problema de diseño en un esquema enunciativo, generando alternativas que posteriormente se evalúan para su factibilidad. Estos datos se estructuran como enunciados matemáticos que describen las restricciones del sistema (Mattei *et al.*, 2013). Un reto importante de dicho método es que las reglas pueden

resultar contradictorias, lo que restringe su aplicabilidad; no obstante, pueden integrarse en metodologías integrales (Mattei *et al.*, 2013).

Por otra parte, la segunda clasificación abarca las técnicas de programación matemática, definidas como un conjunto de ecuaciones que plantean el problema de diseño mediante estructuras matriciales. Estas se resuelven a través de herramientas como *solver*, aunque pueden verse limitadas por el tamaño y la complejidad del modelo de programación matemática (Mattei *et al.*, 2013). El entregable de esta etapa es la definición de la formulación y la selección de ingredientes en términos de restricción matemática.

Este proceso se apoya en diversos programas de *software*, tanto comerciales como de código abierto. Entre los más utilizados se encuentra OptCAMD, un programa de licencia que permite realizar programación matemática basada en optimización mediante la discriminación de moléculas factibles y mezclas precargadas en su sistema, con amplia aplicación en la industria química. Uno ampliamente utilizado en la simulación de procesos es Matlab, el cual no solo tiene esta aplicación, sino que permite el manejo de múltiples sistemas numéricos no algebraicos; por otra parte, existen otros como Mathematica y PTC Mathcad (Musina *et al.*, 2017; Kontogeorgis *et al.*, 2022). En cuanto a *software* de código abierto, destaca el uso del lenguaje de programación Python y su desempeño en el tratamiento de base de datos mediante ecuaciones matemáticas (Musina *et al.*, 2017; Kontogeorgis *et al.*, 2022).

Un reto importante en el diseño de alimentos mediante metodología CAMD radica en las propiedades fisicoquímicas que no tienen datos precedentes, las cuales pueden estimarse por medio de modelos predictivos teóricos. Para ello, una de las metodologías más utilizadas es la estimación por contribución de grupos moleculares propuesta por Gmehling *et al.* (2015), que permite estimar un coeficiente de actividad de la mezcla en función de sus grupos funcionales y predecir teóricamente las

propiedades fisicoquímicas. Este enfoque se integra en la técnica de estimación UNIFAC (*universal quasi-chemical functional group activity coefficients*), estudiada por Vilas *et al.* (2018). Esta metodología ha permitido diseñar productos químicos como gasolinas, solventes y productos de cuidado personal (Zhang *et al.*, 2018).

No obstante, CAMD no se limita al uso de UNIFAC. En sistemas complejos, se ha reportado el uso de modelos como SAFT (*stands for statistical associating fluid theory*) y, en otros casos, la integración de simulación molecular, inteligencia artificial y química cuántica en la técnica integral COSMO-RS (*conductor like screening model for real solvents*), descrita por Gani (2019), con aplicaciones relevantes en la industria farmacéutica y biotecnológica.

Aunque la metodología CAMD ha sido ampliamente reportada en la industria química (Lee *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2017; Arrieta-Escobar *et al.*, 2019), en el diseño de emulsiones los casos exitosos plantean emulsiones orientadas al cuidado personal o los cosméticos.

En este sentido, las emulsiones diseñadas por computadora han tenido mayor desarrollo en la industria cosmética (Arrieta-Escobar *et al.*, 2019; Calvo *et al.*, 2022; Gómez *et al.*, 2022). Sin embargo, existen algunas oportunidades en el diseño de alimentos asistido por computadora. Por ejemplo, Yeboah *et al.* (2022) reportan el diseño heurístico de un helado con una formulación que sustituye la sacarosa. Por otra parte, Patel (2020), en su estudio sobre ingeniería de coloides y formación de emulsiones, plantea el uso de diversos complejos proteína-carbohidrato para ampliar la gama de aplicaciones en la encapsulación de alimentos, destacando el uso de simuladores computacionales para estructurar estas partículas coloidales. Desde otra perspectiva, Sheibani *et al.* (2018) plantean el diseño de alimentos por modelamiento lineal, considerando restricciones nutrimentales, la contribución sensorial y la formulación optimizada en términos de costos.

CONCLUSIONES

El campo del diseño de emulsiones presenta una amplia gama de posibilidades en cuanto al avance tecnológico, al desarrollar opciones de encapsulamiento, sustitución de ingredientes no deseados, recubrimientos biopolímeros o distribución controlada de micronutrientes de alto valor, así como la prolongación de la vida útil de ciertos alimentos.

En este contexto, la industria ha impulsado el crecimiento de la ciencia de las emulsiones mediante su diversificación en nano y microemulsiones, la estructuración de emulsiones múltiples y el desarrollo de sistemas HIPE, lo que evidencia un amplio abanico de aplicaciones. En estos sistemas, los emulgentes desempeñan un papel central en las interacciones estructurales y en la estabilidad.

Si bien el diseño de mezclas por optimización estadística ha permitido desarrollar una amplia variedad de alimentos, las tendencias actuales en simulación y diseño asistido por computadora abren nuevas alternativas en el diseño de alimentos, al reducir el número de experimentos, la cantidad de ingredientes y los costos de innovación que el proceso indica. El principal reto consiste en aplicar metodologías como CAMD en este sector, aprovechando la experiencia reportada en sectores farmacéuticos y cosméticos, donde ya se emplean estos enfoques para formular sistemas de emulsión.

Esta oportunidad de diseños integrales (modelamiento y experimentación) representa una oportunidad estratégica para el sector alimentario, al permitir el desarrollo de una mayor diversidad de emulsiones basadas en la optimización de alternativas alimentarias funcionales.

AGRADECIMIENTOS

Regina Navarrete agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el financiamiento de sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Al Hagbani, T., Altomare, C., Salawi, A. y Nazzal, S. (2018). D-optimal mixture design: Formulation development, mechanical characterization, and optimization of curcumin chewing gums using oppanol® B 12 elastomer as a gum-base. *International Journal of Pharmaceutics*, 553(1), 210-219. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.10.047>
- Alemayehu, G. F., Forsido, S. F., Tola, Y. B. y Amare, E. (2022). Optimization of nutritional and sensory properties of fermented oat-based composite beverage. *Heliyon*, 8(10), e10771. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10771>
- Ammar, I., Sebi, H., Aloui, T., Attia, H., Hadrich, B. y Felfoul, I. (2022). Optimization of a novel, gluten-free bread's formulation based on chickpea, carob and rice flours using response surface design. *Heliyon*, 8(12), e12164. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12164>
- Anastácio, A. y Carvalho, I. S. de. (2016). Development of a beverage benchtop prototype based on sweet potato peels: optimization of antioxidant activity by a mixture design. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(5), 496-506. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1174984>
- Arrieta-Escobar, J. A., Bernardo, F. P., Orjuela, A., Camargo, M. y Morel, L. (2019). Incorporation of heuristic knowledge in the optimal design of formulated products: Application to a cosmetic emulsion. *Computers y Chemical Engineering*, 122, 265-274. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2018.08.032>
- Artiga-Artigas, M., Montoliu-Boneu, J., Salvia-Trujillo, L. y Martín-Belloso, O. (2019). Factors affecting the formation of highly concentrated emulsions and nanoemulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 578, 123577. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123577>
- Ataei Nukabadi, F., Hojjatoleslami, M. y Abbasi, H. (2021). Optimization of fortified sponge cake by nettle leaves and milk thistle seed powder using mixture design approach. *Food Science y Nutrition*, 9(2), 757-771. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2041>
- BahramParvar, M., Tehrani, M. M., Razavi, S. M. A. y Koocheki, A. (2015). Application of simplex-centroid mixture design to optimize stabilizer combinations for ice cream manufacture. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1480-1488. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1133-5>
- Bai, L., Huan, S., Rojas, O. J. y McClements, D. J. (2021). Recent innovations in emulsion science and technology for food applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(32), Article 32. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01877>

- Bevilacqua, A., Speranza, B., Campaniello, D., Sinigaglia, M., Corbo, M. R. y Lamacchia, C. (2019). A preliminary report on the use of the design of experiments for the production of a synbiotic yogurt supplemented with gluten friendly TM flour and *Bifidobacterium infantis*. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00226>
- Bourne, M. C. (1975). Is rheology enough for food texture measurement? *Journal of Texture Studies*, 6(2), 259-262. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1745-4603.1975.tb01253.x>
- Buruk Sahin, Y., Aktar Demirtaş, E. y Burnak, N. (2016). Mixture design: a review of recent applications in the food industry. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 22(4), 297-304. <https://doi.org/10.5505/pajes.2015.98598>
- Calvo, F., Gómez, J. M., Alvarez, O. y Ricardez-Sandoval, L. (2022). Trends and perspectives on emulsified product design. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 35, 100745. <https://doi.org/10.1016/j.coch.2021.100745>
- Chung, C. y McClements, D. J. (2014). Structure-function relationships in food emulsions: improving food quality and sensory perception. *Food Structure*, 1(2), 106-126. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2013.11.002>
- Curi, P. N., Almeida, A. B. de, Tavares, B. de S., Nunes, C. A., Pio, R., Pasqual, M. y Souza, V. R. de. (2017). Optimization of tropical fruit juice based on sensory and nutritional characteristics. *Food Science and Technology*, 37, 308-314. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.24716>
- Dai, L., Yang, S., Wei, Y., Sun, C., McClements, D. J., Mao, L. y Gao, Y. (2019). Development of stable high internal phase emulsions by Pickering stabilization: utilization of zein-propylene glycol alginate-rhamnolipid complex particles as colloidal emulsifiers. *Food Chemistry*, 275, 246-254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.122>
- de Moraes Filho, M. L., Busanello, M., Prudencio, S. H. y Garcia, S. (2018). Soymilk with okara flour fermented by *Lactobacillus acidophilus*: simplex-centroid mixture design applied in the elaboration of probiotic creamy sauce and storage stability. *LWT*, 93, 339-345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.046>
- Difonzo, G., Squeo, G., Pasqualone, A., Summo, C., Paradiso, V. M. y Caponio, F. (2021). The challenge of exploiting polyphenols from olive leaves: Addition to foods to improve their shelf-life and nutritional value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(8), 3099-3116. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10986>
- Dlamini, N. P. y W. K. S. (2019). Optimization of blending ratios of jam from swazi indigenous fruits tincozi (*Syzygium cordatum*), tineyi (*Phyllogeiton zeyheri*) and umfomfo (*Cephalanthus natalensis* Oliv.) using mixture design. *Cogent Food y Agriculture*, 5(1), 1684864. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1684864>
- Encina-Zelada, C. R., Cadavez, V., Teixeira, J. A. y Gonzales-Barron, U. (2019). Optimization of quality properties of gluten-free bread by a mixture design of xanthan, guar, and hydroxypropyl methyl cellulose gums. *Foods*, 8(5), article 5. <https://doi.org/10.3390/foods8050156>
- Floros, J. D., Newsome, R., Fisher, W., Barbosa-Cánovas, G. V., Chen, H., Dunne, C. P., German, J. B., Hall, R. L., Heldman, D. R., Karwe, M. V., Knabel, S. J., Labuza, T. P., Lund, D. B., Newell-McGloughlin, M., Robinson, J. L., Sebranek, J. G., Shewfelt, R. L., Tracy, W. F., Weaver... y Ziegler, G. R. (2010). Feeding the world today and tomorrow: the importance of food science and technology. *Comprehensive Reviews in Food Science y Food Safety*, 9(5), 572-599. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00127.x>
- Galvan, D., Effting, L., Cremasco, H. y Conte-Junior, C. A. (2021). Recent applications of mixture designs in beverages, foods, and pharmaceutical health: a systematic review and meta-analysis. *Foods*, 10(8), article 8. <https://doi.org/10.3390/foods10081941>
- Gani, R. (2019). Group contribution-based property estimation methods: advances and perspectives. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 23, 184-196. <https://doi.org/10.1016/j.coch.2019.04.007>
- Gao, Y., Hamid, N., Gutierrez-Maddox, N., Kantono, K. y Kitundu, E. (2019). Development of a probiotic beverage using breadfruit flour as a substrate. *Foods*, 8(6), article 6. <https://doi.org/10.3390/foods8060214>
- Gmehling, J., Constantinescu, D. y Schmid, B. (2015). Group contribution methods for phase equilibrium calculations. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 6(1), 267-292. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-061114-123424>
- Gómez, I., Calvo, F., Gómez, J. M., Ricardez-Sandoval, L. y Alvarez, O. (2022). A multiscale approach for the integrated design of emulsified cosmetic products. *Chemical Engineering Science*, 251, 117493. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2022.117493>
- Goralchuk, A., Grichenko, O., Riabets, O. y Kotlyar, O. (2019). Food dispersion systems process stabilization. A review. *Ukrainian Food Journal*, (4), 699-732. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2019-8-4-4>
- Granato, D. y Ares, G. (2014). *Mathematical and Statistical Methods in Food Science and Technology*. John Wiley y Sons.
- Guedes-Oliveira, J. M., Costa-Lima, B. R. C., Oliveira, D., Neto, A., Deliza, R., Conte-Junior, C. A. y Guimarães, C. F. M. (2019). Mixture design approach for the development of reduced fat lamb patties with carboxymethyl cellulose and inulin. *Food Science y Nutrition*, 7(4), 1328-1336. <https://doi.org/10.1002/fsn3.965>
- Guzey, D. y McClements, D. J. (2006). Formation, stability and properties of multi-

- layer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128-130, 227-248. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.021>
- Hong, Z., Xiao, N., Li, L. y Xie, X. (2020). Investigation of nanoemulsion interfacial properties: a mesoscopic simulation. *Journal of Food Engineering*, 276, 109877. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109877>
- Hosseini, H., Bolourian, S. y Shahidi, F. (2019). Extending the shelf-life of sponge cake by an optimized level of jujube fruit flour determined using custom mixture design. *British Food Journal*, 121(12), 3208-3232. <https://doi.org/10.1108/BFJ-07-2019-0489>
- Hu, Y. T., Ting, Y., Hu, J. Y. y Hsieh, S. C. (2017). Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 16-26. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.021>
- Kalakul, S., Zhang, L., Fang, Z., Choudhury, H. A., Intikhab, S., Elbashir, N., Eden, M. R. y Gani, R. (2018). Computer aided chemical product design - ProCAPD and tailor-made blended products. *Computers y Chemical Engineering*, 116, 37-55. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2018.03.029>
- Kim, M. B., Ko, J. Y. y Lim, S. B. (2017). Formulation optimization of antioxidant-rich juice powders based on experimental mixture design. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12897. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12897>
- Kontogeorgis, G. M., Jhamb, S., Liang, X. y Dam-Johansen, K. (2022). Computer-aided design of formulated products. *Current Opinion in Colloid y Interface Science*, 57, 101536. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101536>
- Lafontaine, S. R. y Shellhammer, T. H. (2018). sensory directed mixture study of beers dry-hopped with cascade, centennial, and chinook. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76(3), 199-208. <https://doi.org/10.1080/03610470.2018.1487747>
- Leardi, R. (2013). Experimental design. In *Chemometrics in Food Chemistry*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, volume 28.
- Leister, N. y Karbstein, H. P. (2020). Evaluating the stability of double emulsions-A review of the measurement techniques for the systematic investigation of instability mechanisms. *Colloids and Interfaces*, 4(1), article 1. <https://doi.org/10.3390/colloids4010008>
- Marcheafave, G. G., Pauli, E. D., Tormena, C. D., Mattos, L. E., de Almeida, A. G., Rakocevic, M., Bruns, R. E. y Scarminio, I. S. (2020). Irrigated and CO₂ level effects on metabolism in *Coffea arabica* beans from mixture design-near infrared fingerprints. *Microchemical Journal*, 152, 104276. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104276>
- Mattei, M. (2014). An integrated methodology for emulsified formulated product design- DTU Research Database. <https://orbit.dtu.dk/en/publications/an-integrated-methodology-for-emulsified-formulated-product-design/>
- Mattei, M., Conte, E., Kontogeorgis, G. M. y Gani, R. (2013). Prediction of thermo-physical properties of liquid formulated products. En *Product Design and Engineering*, 121-151. John Wiley y Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9783527654741.ch5>
- Mehmood, T., Ahmed, A., Ahmad, A., Ahmad, M. S. y Sandhu, M. A. (2018). Optimization of mixed surfactants-based β -carotene nanoemulsions using response surface methodology: an ultrasonic homogenization approach. *Food Chemistry*, 253, 179-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.136>
- Muschiolik, G. y Dickinson, E. (2017). Double emulsions relevant to food systems: preparation, stability, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), 532-555. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12261>
- Musina, O., Putnik, P., Koubaa, M., Barba, F. J., Greiner, R., Granato, D. y Roohinejad, S. (2017). Application of modern computer algebra systems in food formulations and development: a case study. *Trends in Food Science y Technology*, 64, 48-59. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.011>
- Nikmaram, N., Roohinejad, S., Hashemi, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Abbaspourrad, A. y Greiner, R. (2017). Emulsion-based systems for fabrication of electrospun nanofibers: food, pharmaceutical and biomedical applications. *RSC Advances*, 7(46), 28951-28964. <https://doi.org/10.1039/C7RA00179G>
- Ntsoane, M. L., Sivakumar, D. y Mahajan, P. V. (2020). Optimisation of O₂ and CO₂ concentrations to retain quality and prolong shelf life of «shelly» mango fruit using a simplex lattice mixture design. *Biosystems Engineering*, 192, 14-23. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2020.01.009>
- Ogundele, O. M. A., Awolu, O. O., Badejo, A. A., Nwachukwu, I. D. y Fagbemi, T. N. (2016). Development of functional beverages from blends of *Hibiscus sabdariffa* extract and selected fruit juices for optimal antioxidant properties. *Food Science y Nutrition*, 4(5), 679-685. <https://doi.org/10.1002/fsn3.331>
- Okuro, P. K., Gomes, A., Costa, A. L. R., Adame, M. A. y Cunha, R. L. (2019). Formation and stability of W/O-high internal phase emulsions (HIPEs) and derived O/W emulsions stabilized by PGPR and lecithin. *Food Research International*, 122, 252-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.028>
- Patel, A. R. (2020). Functional and engineered colloids from edible materials for emerging applications in designing the food of the future. *Advanced Functional Materials*, 30(18), 1806809. <https://doi.org/10.1002/adfm.201806809>

- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H. y McClements, D. J. (2012). Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food Chemistry*, 132(3), 1221-1229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.091>
- Safaya, M. y Rotliwala, Y. C. (2020). Nanoemulsions: a review on low energy formulation methods, characterization, applications and optimization technique. *Materials Today: Proceedings*, 27, 454-459. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.11.267>
- Santos, J. M. dos, Ignácio, E. O., Bis-Souza, C. V. y Silva-Barretto, A. C. da. (2021). Performance of reduced fat-reduced salt fermented sausage with added microcrystalline cellulose, resistant starch and oat fiber using the simplex design. *Meat Science*, 175, 108433. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108433>
- Sheibani, E., Dabbagh Moghaddam, A., Sharifan, A. y Afshari, Z. (2018). Linear programming: an alternative approach for developing formulations for emergency food products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1444-1452. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8612>
- Siche, R., Ávalos, C., Arteaga, H., Saldaña, E. y Vieira, T. M. F. S. (2015). Antioxidant capacity of binary and ternary mixtures of orange, grape, and starfruit juices. *Current Nutrition y Food Science*, 12(1), 65-71. <http://doi.org/10.2174/15734013116666150901221115>
- Sijtsema, S. J., Fogliano, V. y Hageman, M. (2020). Tool to support citizen participation and multidisciplinary in food innovation: Circular Food Design. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2020.582193>
- Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N. y Garcia-Celma, M. J. (2005). Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid y Interface Science*, 10(3), 102-110. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.06.004>
- Squeo, G., De Angelis, D., Leardi, R., Summo, C. y Caponio, F. (2021). Background, applications and issues of the experimental designs for mixture in the food sector. *Foods*, 10(5), article 5. <https://doi.org/10.3390/foods10051128>
- Tan, C. y McClements, D. J. (2021). Application of advanced emulsion technology in the food industry: a review and critical evaluation. *Foods*, 10(4), article 4. <https://doi.org/10.3390/foods10040812>
- Torres, J. J., Tinjaca, C. D., Alvarez, O. A. y Gómez, J. M. (2020). Optimization proposal for emulsions formulation considering a multiscale approach. *Chemical Engineering Science*, 212, 115326. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2019.115326>
- Vilas, C., Arias-Méndez, A., García, M. R., Alonso, A. A. y Balsa-Canto, E. (2018). Toward predictive food process models: a protocol for parameter estimation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(3), 436-449. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1186591>
- Yeboah, J., Santoro, A. M., Arrieta-Escobar, J. A., Caballero, I. M., Orjuela, A., Novoa, C. F., Fuenmayor, C. A. y Hamdani, F. E. (2022). Heuristic-based computer-aided design of ice creams and validation by using jaggery as refined sugar substitute. *Chemical Engineering Research and Design*, 184, 256-266. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.06.018>
- Yu, J., Gleize, B., Zhang, L., Caris-Veyrat, C. y Renard, C. M. G. C. (2019). A D-optimal mixture design of tomato-based sauce formulations: effects of onion and EVOO on lycopene isomerization and bioaccessibility. *Food y Function*, 10(6), 3589-3602. <https://doi.org/10.1039/C9FO00208A>
- Wang, C., Pei, X., Tan, J., Zhang, T., Zhai, K., Zhang, F., Bai, Y., Deng, Y., Zhang, B., Wang, Y., Tan, Y., Xu, K. y Wang, P. (2020). Thermoresponsive starch-based particle-stabilized Pickering high internal phase emulsions as nutraceutical containers for controlled release. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146, 171-178. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.269>
- Wei, Z., Cheng, Y., Zhu, J. y Huang, Q. (2019). Genipin-crosslinked ovotransferrin particle-stabilized Pickering emulsions as delivery vehicles for hesperidin. *Food Hydrocolloids*, 94, 561-573. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.008>
- Zendeboodi, F., Yeganehzad, S. y Sadeghian, A. (2018). Optimizing the formulation of a natural soft drink based on biophysical properties using mixture design methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 763-769. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9690-3>
- Zhang, L., Kalakul, S., Liu, L., Elbashir, N. O., Du, J. y Gani, R. (2018). A computer-aided methodology for mixture-blend design. Applications to tailor-made design of surrogate fuels. *Industrial y Engineering Chemistry Research*, 57(20), 7008-7020. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b00775>
- Zhou, F. Z., Huang, X. N., Wu, Z., Yin, S. W., Zhu, J., Tang, C.-H. y Yang, X. Q. (2018). Fabrication of zein/pectin hybrid particle-stabilized Pickering high internal phase emulsions with robust and ordered interface architecture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(42), 11113-11123. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03714>
- Zhu, Q., Pan, Y., Jia, X., Li, J., Zhang, M. y Yin, L. (2019). Review on the stability mechanism and application of water-in-oil emulsions encapsulating various additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6), 1660-1675. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12482>



Aplicación de los susceptores en el procesamiento de alimentos mediante microondas

Flor Elizabeth de León-Serna* y Nelly Ramírez-Corona

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

Correos electrónicos: flor.deleonsa@udlap.mx • nelly.ramirez@udlap.mx

De León Serna, F. E. y Ramírez Corona, N. (2024). Aplicación de los susceptores en el procesamiento de alimentos mediante microondas. *TSIA*, 18.

RESUMEN

La tecnología del microondas ha crecido exponencialmente en el procesamiento de alimentos debido a las grandes ventajas que ofrece frente a otras tecnologías, como la reducción de tiempo de cocción y del consumo de energía. Sin embargo, existen ciertos defectos de calidad relacionados con la aplicación de esta tecnología, principalmente la falta de oscurecimiento y crocancia. Los susceptores son materiales que absorben la energía del microondas y la transfieren en forma de calor al alimento, lo que permite obtener productos con características deseables para el consumidor. Por lo tanto, el objetivo del presente artículo de revisión es brindar un panorama general de los materiales y la aplicación de los susceptores en el procesamiento de los alimentos, así como presentar una revisión de los mecanismos de transferencia de calor involucrados y el uso de algunos modelos matemáticos para describir el calentamiento con microondas de alimentos mediante susceptores.

Palabras claves: microondas, susceptor, oscurecimiento, crocancia.

ABSTRACT

Microwave technology has grown exponentially in food processing due to the great advantages it offers compared to other conventional technologies, such as reduced cooking time and energy consumption. However, there are certain quality defects related to the application of this technology, some of which are the lack of browning and crisping. Susceptors are materials that absorb microwave energy and transfer it to the food in the form of heat. The application of susceptors in microwave heating of food has been successful to obtain products with desirable characteristics for the consumer. The objective of this review article is to provide an overview of the materials and application of susceptors for food processing, as well as to present a review of the heat transfer mechanisms involved and the use of some mathematical models to describe microwave heating of food using susceptors.

Keywords: microwave, susceptor, browning, crisping.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, los consumidores se han vuelto más conscientes de los temas relacionados con la salud a través de la ingesta de alimentos. Debido a ello, ha surgido una creciente demanda de alimentos que aporten beneficios a la salud y que, a su vez, sean fáciles de preparar. Una de las estrategias utilizadas por la industria de los alimentos para hacer frente a este reto es el uso de tecnologías térmicas distintas al calentamiento convencional, con el objetivo de mejorar la calidad de los productos disponibles en el mercado o de desarrollar otros nuevos. El procesamiento con microondas ha sido una tecnología exitosa con diversas aplicaciones en la industria alimentaria (Contreras *et al.*, 2017).

Las microondas son ondas electromagnéticas con una banda de frecuencia de 300 MHz a 300 GHz. En el espectro electromagnético, se ubican entre el rango de radiofrecuencia más bajo y el rango de infrarrojo y luz visible con frecuencias más altas. De igual forma, las microondas pertenecen al espectro no ionizante (Regier *et al.*, 2017).

La tecnología del microondas se ha implementado en diversas operaciones unitarias a nivel industrial como descongelación, secado, cocción, esterilización y pasteurización, gracias a las ventajas que ofrece frente a los métodos convencionales: reducción del tiempo de procesamiento, consumo de energía, mayor control del proceso, ahorro de espacio, manejo seguro y facilidad de operación. Por otro lado, el incremento de la urbanización en países en desarrollo ha favorecido el incremento del uso de hornos de microondas en los hogares, donde comúnmente se emplean para el calentamiento, la cocción y la descongelación rápida de alimentos (Orsat *et al.*, 2017).

Sin embargo, algunos defectos de calidad en los alimentos se han asociado al procesamiento con microondas, como falta de cocción y textura y sabor indeseable (Verma *et al.*, 2020). Para minimizar estos defectos, la industria ha desarrollado empaques que permiten una cocción adecuada y uniforme, con los que el alimento alcanza los atributos de calidad deseados por el consumidor. Los susceptores son un ejemplo de este tipo de empaques, ya que tienen la capacidad de absorber la energía de las

microondas y transferirla al alimento para lograr una cocción adecuada (Zuckerman y Miltz, 1998).

La superficie del susceptor puede alcanzar entre 200 y 300 °C en un horno de microondas doméstico de 2.45 GHz. Sin el uso de este material, la temperatura de la superficie de contacto con el alimento no llegaría a los 100 °C durante el calentamiento con microondas (Chen *et al.*, 2017). Debido a esta característica, el uso de susceptores ha crecido exponencialmente en la industria alimentaria, lo que permite que diversos alimentos sean cocinados en el microondas de manera fácil y rápida por el consumidor.

El objetivo de este artículo es brindar un panorama general de las diferentes aplicaciones de los susceptores en la industria alimentaria y del uso de los modelos matemáticos que se han empleado para describir el calentamiento mediante microondas del alimento con susceptores. El primer apartado abarcará las características, propiedades y materiales de los susceptores. Posteriormente, se presentarán las diferentes aplicaciones de estos susceptores en matrices alimentarias, específicamente en productos obtenidos a partir de cereales y cárnicos. Finalmente, se describirán los diferentes modelos matemáticos aplicados al calentamiento con microondas de alimentos mediante susceptores, junto con los mecanismos de calor entre el susceptor y el alimento.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Generalidades y materiales utilizados en el desarrollo de susceptores

El calentamiento con microondas es resultado de la interacción entre las propiedades dieléctricas de un material y las ondas electromagnéticas (Meda *et al.*, 2017). Por lo tanto, este calentamiento se basa en la respuesta de un material a los campos eléctricos y magnéticos generados por el microondas. Esta respuesta se mide mediante dos propiedades importantes: la constante dieléctrica, también llamada permitividad, que mide la capacidad de un material para almacenar energía eléctrica; mientras que el factor de disipación o de pérdida dieléctrica determina

la capacidad del material para convertir la energía eléctrica en calor (Bhattacharya y Basak, 2016).

Cuando las ondas del microondas inciden sobre un material dieléctrico, una parte de esta energía es transmitida, otra es absorbida por el material y el resto se disipa en forma de calor. La absorción de energía se produce por la polarización de las cargas, mientras que la conversión de energía eléctrica en calor surge de la relajación de estas moléculas polarizadas y del transporte de electrones libres. Por otro lado, el incremento en el calentamiento es consecuencia del aumento en la energía cinética molecular, resultado del mayor movimiento de los dipolos presentes en el material al intentar reorientarse con el campo eléctrico de la onda incidente. Este incremento en el movimiento de los dipolos genera, a su vez, una mayor fricción molecular (Bhattacharya y Basak, 2016; Meda *et al.*, 2017).

Otro parámetro de gran importancia en el calentamiento con microondas es el factor de penetración, el cual determina la distancia a la que la intensidad del campo electromagnético disminuye a $1/e$ ($=0.368$) de la amplitud inicial. Con base en la interacción con las microondas y tomando en cuenta la magnitud de este factor junto con la composición, los materiales pueden clasificarse en tres grandes grupos. El primero corresponde a

los materiales reflectantes, que comprenden todos aquellos con un factor de penetración muy bajo (en el orden de nm), como los metales; esta magnitud evita la penetración de las ondas microondas y provoca que sean reflejadas totalmente desde la superficie del material. El segundo grupo corresponde a los materiales transparentes, con un factor de penetración muy grande (en el orden de m), que favorece que las ondas atraviesen el material sin ninguna absorción ni atenuación de la energía; algunos ejemplos de estos materiales son el teflón, el vidrio y el cuarzo. El tercer grupo comprende los materiales disipadores (con un factor de penetración en el orden de cm), que se caracterizan por absorber rápidamente la energía del microondas y convertirla en calor; el carbón y el agua son ejemplos de este tercer grupo (Bhattacharya y Basak, 2016; Das y Banik, 2021).

Los susceptores pertenecen al grupo de materiales disipadores con la característica principal de convertir la energía del microondas en calor sensible, el cual es conducido e irradiado a la superficie del alimento (Bohrer y Brown, 2001). Además, en lo que respecta a empaques para uso en microondas, los susceptores son considerados empaques activos porque interactúan con las microondas para crear o ejercer condiciones específicas en el alimento, como se muestra en la tabla I (Schiffmann, 2017).

Tabla I. Diseño de susceptores en alimentos

Diseño de susceptor	Características	Aplicaciones
Susceptor tipo almohadilla	Calentamiento en la cara inferior del alimento.	Alimentos precocidos o prehechos
Susceptor de funda	Tiene la capacidad de proporcionar calentamiento a múltiples caras en el alimento.	Pizzas, sándwiches y baguetes
Bandeja de susceptor elevada	El calentamiento se da en la cara inferior del alimento. La elevación del susceptor permite reducir las pérdidas de calor.	Pizzas prehechas de gran tamaño
Susceptor de calentamiento estampado	La película metalizada de aluminio puede o no estar estampada. Este estampado permite una distribución de temperatura deseada.	Alimentos con múltiples ingredientes

Fuente: elaboración propia, adaptada de Bohrer y Brown (2001).

El objetivo principal de estos empaques es proveer de atributos y características a los alimentos similares a los obtenidos con métodos de calentamiento convencionales. Los primeros susceptores estuvieron disponibles comercialmente en 1970 y eran comúnmente llamados platos de oscurecimiento (*browning dishes*) o parrillas para dorar en microondas (Perry y Lentz, 2020). Estos utensilios estaban fabricados con una delgada capa de metal, comúnmente de óxido de estaño, unida a una pieza de cerámica. Para lograr un calentamiento adecuado, era necesario realizar un precalentamiento del plato vacío a altas potencias en el horno de microondas durante varios minutos. Una vez precalentado, la comida se colocaba en el plato y nuevamente se calentaba en el microondas. Sin embargo, este tipo de susceptores no se consideraban eficientes debido a diversos inconvenientes, como el aumento del tiempo de preparación del alimento y el manejo especial por parte del consumidor, como resultado de las altas temperaturas que alcanzaba el plato (Bohrer y Brown, 2001).

Actualmente, los susceptores más utilizados y comercializados están fabricados a partir de una película delgada de PET unida una capa metálica, comúnmente de aluminio. Esta capa

se encuentra del lado opuesto al alimento y, a su vez, laminada a un sustrato de papel o cartón (figura 1) (Perry y Lentz, 2020). La función principal de esta capa metálica es interactuar con el componente eléctrico del campo energético del microondas, proporcionando calor sensible al alimento para un calentamiento adecuado (Bohrer y Brown, 2001).

El comportamiento de este tipo de susceptores se caracteriza por la propiedad de impedancia superficial. Esta se compone de dos parámetros: la resistencia y la reactancia superficial. La resistencia superficial está determinada por el tipo y la cantidad de metal utilizado en el susceptor. Por su lado, la reactancia es una medida de la continuidad de la capa metálica sobre la superficie cubierta. Estos parámetros son relevantes porque definen las propiedades y el comportamiento del susceptor al ser expuesto en el microondas (Perry y Lentz, 2020). Cuando el susceptor es colocado en el microondas con el alimento, el flujo de corriente de energía circulará a través de la película metálica y, si el parámetro de resistencia superficial es adecuado, el calentamiento ocurrirá de manera rápida debido a la conversión de la energía del microondas en calor sensible (Schiffmann, 2011).

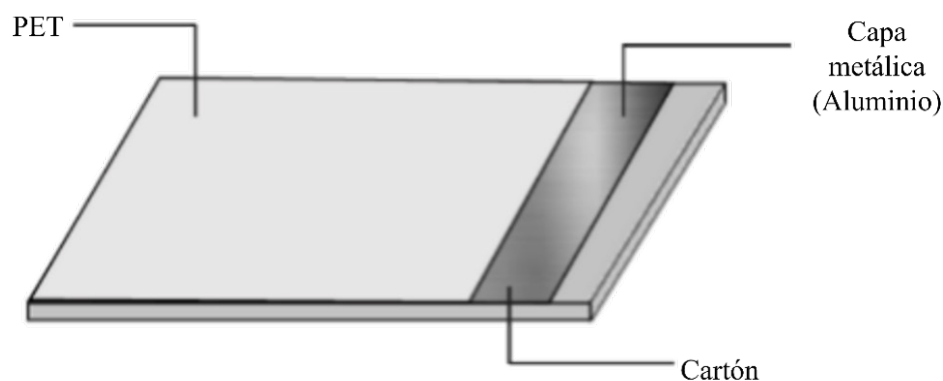


Figura 1.

Estructura de un susceptor.

Debido a que la película de metal puede favorecer la migración de compuestos al alimento, es necesario el uso de otro material que la soporte y evite el contacto directo del alimento con el metal. Las películas de polímeros son comúnmente utilizadas como soporte para las capas metálicas, específicamente el PET. Este polímero tiene características que resultan de importancia para su uso en microondas, como una amplia variedad de grosores y resistencia a altas temperaturas. Además, está aprobado por la FDA como material seguro para su uso en contacto con alimentos (Bohrer y Brown, 2001; Regier, 2014).

Los susceptores se forman mediante un proceso denominado metalización al vacío. Durante este proceso, se hace pasar una película delgada de PET sobre metal fundido en una cámara de vacío. Las moléculas de metal comienzan a evaporarse debido a las altas temperaturas, lo que provoca que choquen y se congelen en la superficie de la película de PET. Una ventaja importante de este proceso es la capacidad que tienen las máquinas de metalización para depositar capas de metal con la uniformidad y el grosor requeridos para un susceptor. Otros materiales, como el acero inoxidable y algunas aleaciones de níquel, han sido probados para su aplicación en capas metálicas. Sin embargo, el aluminio provee la mejor relación de costo y rendimiento (Bohrer y Brown, 2001). Además de estas dos capas, es necesario agregar otro soporte con buena resistencia para brindar fuerza y resistencia mecánica al susceptor. Generalmente, esta tercera capa se compone de papel o cartón unido a la capa metálica con polivinilacetato como adhesivo (Regier, 2014).

La superficie del susceptor es capaz de alcanzar temperaturas elevadas (aproximadamente 204 °C) en un tiempo aproximado de un minuto o menos. Debido a esto, es necesario un mecanismo que limite el aumento de la temperatura y reduzca la absorción de energía en el susceptor. Una de las técnicas empleadas para este mecanismo es debilitar el enlace entre la película metálica y el polímero. A medida que este enlace se debilita, la estructura del metal cambia debido a la aparición

de distorsiones o grietas, lo que provoca variaciones en la conductividad. Cuando esto sucede, la capa del polímero se divide y la película metálica detiene su calentamiento. Una vez que la temperatura en el metal deja de incrementarse, el susceptor continúa calentando el alimento a una tasa de velocidad reducida. Este mecanismo limitante es de suma importancia en el diseño de un susceptor, ya que evita incidentes asociados con el incremento de la temperatura. Por ejemplo, el proceso de combustión espontánea del papel y el cartón ocurre alrededor de los 234 °C, lo que podría ocasionar alteraciones importantes en la estructura del empaque y daños al horno de microondas. Asimismo, un incremento acelerado de la temperatura ocasionaría que los alimentos se quemen o presenten atributos de calidad indeseables para el consumidor. Sin embargo, para asegurar que el calentamiento sea adecuado, es necesario que el susceptor se encuentre en contacto directo con la superficie del alimento (Bohrer y Brown, 2001; Schiffmann, 2011).

2. Aplicación de susceptores para el procesamiento de alimentos

2.1. Productos de panadería

La tecnología del microondas ha sido aplicada en diversas áreas de la industria de alimentos con buenos resultados (Zuckerman y Miltz, 1998; Clarke y Farrell, 2000; Ozmutlu *et al.*, 2001; Sahin *et al.*, 2002; Megahey *et al.*, 2005; Ozkoc *et al.*, 2009). Sin embargo, en lo que respecta a productos de panadería, su aplicación se ha visto limitada como consecuencia de la falta de ciertos atributos de calidad importantes en el producto final, como oscurecimiento en la superficie y formación de la corteza (J. Wang *et al.*, 2008).

Existen dos fenómenos de gran importancia que definen las características finales del pan: el oscurecimiento y la crocancia. El oscurecimiento de la superficie es consecuencia de la reacción de Maillard. Esta reacción depende de la presencia

de los reactantes (un aminoácido y un azúcar reductor), una actividad de agua de aproximadamente 0.8, un pH neutro o alcalino (alrededor de 7) y una temperatura en la superficie del pan de 100 °C o más. Si bien el microondas ofrece un incremento rápido de la temperatura, el aire que se encuentra en el horno se encuentra a temperatura ambiente, lo que dificulta que se alcance la temperatura adecuada en la superficie (Schiffmann, 2017).

La crocancia es otra característica de calidad deseada en los productos de panadería. Esta característica surge como consecuencia de las altas temperaturas, alrededor de 190 °C o más. Las altas temperaturas ocasionan que la superficie se deshidrate y alcance una actividad de agua ideal para obtener la textura adecuada. Por otro lado, el incremento de la presión de vapor interna del alimento, como consecuencia de las microondas, ocasiona la expulsión de agua del interior a la superficie del alimento. Al llegar a la superficie, el agua se condensa y satura debido a la diferencia de temperaturas entre el alimento y el microondas, lo que impide que el pan logre una crocancia adecuada (Schiffmann, 2017).

Los susceptores han sido aplicados exitosamente en distintos productos de panadería con el objetivo de favorecer el oscurecimiento en la superficie y la crocancia del pan. Aguilar *et al.* (2015) evaluaron el efecto del horneado con horno convencional, horno de microondas y horno de microondas con la presencia de susceptores sobre las características de un pan sin gluten congelado y previamente horneado. Dichos autores observaron que el pan horneado de manera convencional y en microondas con susceptores presentaban mayor oscurecimiento en la superficie, a diferencia del pan horneado en microondas sin susceptor, que no presentaba ningún cambio de color. Por otro lado, el pan horneado en microondas sin susceptor presentó una mayor dureza que las demás muestras, como consecuencia de la pérdida de agua durante el horneado por el incremento de la presión de vapor interna en el alimento. Como se mencionó anteriormente, el uso del susceptor favorece el incremento en la temperatura de la superficie del

pan, lo que permite obtener una crocancia adecuada (Bohrer y Brown, 2001). Los resultados del análisis de compuestos volátiles demostraron que el pan obtenido mediante horneado convencional y aquel procesado con susceptores presentaban el mismo perfil de compuestos volátiles. Finalmente, en este estudio se concluyó que el horneado en microondas con susceptor podría ser una alternativa al horneado convencional, con ventajas importantes como la reducción del tiempo y del consumo de energía (Aguilar *et al.*, 2015).

Algunos autores denominan susceptores comestibles a los ingredientes que son capaces de interactuar con el campo eléctrico del microondas (Kamper y McGauley, 1994; Albert *et al.*, 2012). En el estudio realizado por Sahin *et al.* (2002) se evaluó el efecto de los susceptores comestibles, susceptores comerciales y el horneado convencional como tratamientos para el oscurecimiento del color y la dureza de la corteza de pan horneado en microondas. El pan horneado con susceptores comerciales presentó una menor humedad y mayor dureza, a diferencia de las muestras obtenidas mediante los otros tratamientos de oscurecimiento. Por otro lado, en todas las muestras se evaluaron los perfiles de temperatura durante el horneado. Los autores observaron que las temperaturas en las muestras con susceptores eran más altas, lo que podría estar relacionado con el incremento en la dureza y la disminución de humedad en el pan. En cuanto al susceptor comercial, este tratamiento no afectó significativamente ($p > 0.05$) la temperatura durante el horneado en microondas. Una desventaja importante de este tipo de susceptores es la temperatura, ya que su capacidad de calentamiento está limitada a un rango de temperatura específico (Bohrer y Brown, 2001).

Además, Sahin *et al.* (2002) observaron diferencias entre los perfiles de temperatura de las muestras con susceptores comerciales, debido a que las muestras fueron horneadas con dos tipos de susceptores: uno estándar, compuesto por una capa metálica continua, y otro con un mecanismo limitante de temperatura, constituido por una capa metálica discontinua. Los autores señalaron que esta diferencia en la capacidad

de calentamiento se debe al diseño y la estructura de los susceptores. El susceptor estándar no tiene un mecanismo limitante de temperatura definido, a diferencia del otro tipo de susceptor. Este otro se encuentra limitado por el diseño, en el cual las uniones entre las capas del susceptor se debilitan como consecuencia del calentamiento en el microondas, lo que favore la disminución de la temperatura. Sin embargo, es importante resaltar que en el estudio no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la dureza de las muestras horneadas con diferentes tipos de susceptores a una potencia del 20 % en el microondas. En cuanto al color, se observó que los susceptores no lograron un oscurecimiento adecuado de la superficie del pan, debido a que no fueron colocados en la superficie. De acuerdo con Schiffman (2017), para que el susceptor tenga un uso efectivo debe estar en contacto directo con la superficie del alimento. Sin embargo, los autores mencionaron que la aplicación de susceptores resultó exitosa para desarrollar el color adecuado en la superficie inferior del pan. En este estudio se concluyó que la aplicación de susceptores permite mejorar el color y la crocancia en la superficie inferior del pan, además de contribuir a prevenir la acumulación de agua en los productos de panadería.

De igual manera, Icoz *et al.* (2004) compararon el efecto del horneado de pan en horno convencional, en microondas y en microondas con la asistencia del susceptor en los atributos de color (L^* , a^* y b^*) y dureza. En este estudio también se observó que el susceptor resultaba efectivo para obtener el oscurecimiento adecuado en el pan. Cuando no había presencia del susceptor, los autores observaron que los valores de a^* y b^* no cambiaron significativamente ($p > 0.05$) durante el horneado en microondas. Por el contrario, se observó un incremento significativo ($p > 0.05$) en el valor a^* en la superficie inferior del pan durante los primeros tres minutos y medio, lo que indica un incremento rápido de la temperatura en el susceptor. Además, es importante mencionar que, debido a que el susceptor se colocó únicamente en la cara inferior del pan, no se observaron cambios en los parámetros del color. En cuanto a la textura, se

observó que la dureza del pan en la cara inferior incrementaba con el tiempo, a diferencia de la superficie. De acuerdo con los autores, este fenómeno es resultado de la posición del susceptor en la muestra. Además, este mismo parámetro de dureza incrementaba con la potencia del horno de microondas.

La mayoría de los estudios sobre horneado de pan en microondas demuestran que el uso de susceptores es indispensable para lograr el oscurecimiento y la crocancia característicos del producto. Sin embargo, en el estudio realizado por Wang *et al.* (2008) se comparó el uso de un susceptor tradicional con dos tipos de empaques elaborados a base de láminas de politetrafluoroetileno expandido, evaluando la apariencia y textura de galletas de soya horneadas en microondas. En este estudio se observó que el producto horneado con susceptor presentó valores significativamente menores ($p > 0.05$) en los atributos de textura y color, en comparación con los procesados en empaques a base de politetrafluoroetileno. No obstante, es importante destacar que la formulación es un factor determinante en el diseño de productos destinados al horneado en microondas. Además, los parámetros de tiempo y potencia de horneado también influyen en la efectividad del susceptor. En el estudio de Wang *et al.* (2008), todas las galletas se hornearon bajo las mismas condiciones: 50 % de potencia durante 75 segundos.

2.2. Productos cárnicos

Otra de las áreas de aplicación de los susceptores para el procesamiento de alimentos es la industria cárnica. La mayoría de los alimentos listos para comer hechos a base de carne están disponibles en los supermercados para cocinarse o recalentarse mediante ambos mecanismos de calentamiento (horno convencional y microondas) (Walsh y Kerry, 2012).

A diferencia de la industria panadera, en esta se ha empleado el uso de susceptores comestibles, los cuales han sido principalmente utilizados en productos cárnicos rebozados. En el estudio realizado por Albert *et al.* (2012), se evaluó la efectividad de una película a base de alginato de sodio como un susceptor comestible, con el objetivo de mejorar la calidad

de *nuggets* de pollo cocinados en microondas. Según con lo reportado por Shukla y Anantheswaran (2001), las sales pueden funcionar como un ingrediente clave para lograr el oscurecimiento y la crocancia de la superficie de alimentos como los *nuggets*, ya que interactúan con las microondas elevando el punto de ebullición del agua. Además, estos ingredientes tienen la capacidad de modificar el comportamiento dieléctrico del alimento, lo que resulta en un incremento en el factor de pérdida. Como se mencionó anteriormente, este factor es indispensable para convertir la energía del microondas en calor. Las muestras de *nuggets* fueron sometidas a una fritura previa en una freidora doméstica y posteriormente a cocción en microondas durante diferentes tiempos de calentamiento (de 15 a 60 segundos). Los autores observaron que, cuando las muestras de *nuggets* fueron cocinadas durante 15 segundos, el producto presentaba puntos fríos por debajo de 0 °C. Sin embargo, con el incremento del tiempo de calentamiento, incrementaban los puntos calientes o áreas de alta temperatura. Por ejemplo, cuando el *nugget* fue cocinado por 55 segundos, las zonas centrales del producto presentaban cierto grado de resequeidad. A pesar de que el microondas ofrece un incremento rápido de la temperatura en los alimentos, presenta la desventaja de carecer de uniformidad en el calentamiento, especialmente cuando no existe otro medio capaz de disminuir esta falta de uniformidad, como los susceptores metálicos. A pesar de que el microondas favoreció la aparición de estos puntos calientes y fríos, se demostró que la película de alginato de sodio resultaba efectiva como susceptor comestible, ya que facilitaba el incremento de la temperatura. Además, la presencia de este alginato disminuyó la proporción de puntos fríos, efecto que incrementaba con la cantidad de sal presente en la película. Bohrer y Brown (2001) mencionaron que cualquier mezcla de sal utilizada como susceptor debe ser lo suficientemente gruesa para poder absorber y convertir efectivamente la energía del microondas.

En otro estudio realizado por Albert *et al.* (2009) se evaluó la adición de dos diferentes dextrinas (alta y media solubilidad)

a la formulación de la masa y el uso de un susceptor metálico como estrategias para mejorar la crocancia de *nuggets* a base de pescado. Sobre el atributo de color, se observó que el uso del susceptor, por sí solo, no era suficiente para mejorar el color de las muestras. Los autores utilizaron dos métodos para evaluar la crocancia en los *nuggets*: perfiles de textura y de sonido. De acuerdo con Limited y Burch (2007), la emisión de sonido es un aspecto importante en la percepción de alimentos crujientes y crocantes. En este estudio, la combinación de dextrina y susceptor permitió obtener muestras de *nuggets* con un color adecuado. Asimismo, el uso del susceptor devino en la obtención de muestras con una mayor crocancia, a diferencia de las muestras sin susceptor. Finalmente, los autores demostraron que la combinación de dextrinas con el uso de susceptores funciona adecuadamente para el calentamiento con microondas, lo que permite explorar nuevas estrategias para lograr productos rebozados crujientes mediante esta tecnología.

Por su parte, Wang *et al.* (2020) evaluaron la diferencia en el atributo de terneza en panceta de cerdo mediante dos mecanismos de calentamiento (con y sin susceptor) durante la cocción en microondas. A diferencia de los estudios anteriormente mencionados, en este artículo se utilizó un plato de cerámica como susceptor. Los autores observaron que el contenido de humedad en la muestra sin susceptor era significativamente menor ($p < 0.05$) en comparación de la muestra con susceptor, indicando que esta última presentaba una textura más jugosa. Asimismo, se evaluaron los perfiles de temperatura en ambas muestras, observándose que, durante gran parte del calentamiento, las muestras con susceptor mantuvieron una temperatura más alta que aquellas sin susceptor. Esto se debe a que el susceptor tiene la capacidad de absorber las microondas e incrementar la temperatura del alimento, lo que favorece un calentamiento más uniforme. Además, se evaluó la microestructura de ambas muestras, encontrándose que las fibras musculares de las muestras sin susceptor presentaban más irregularidades y espacios vacíos en la matriz proteína-grasa. En contraste, las micrografías de carne cocinada con susceptor

mostraron una matriz proteína-grasa más compacta y estable, con menor cantidad de espacios vacíos, lo que se asocia con una mayor capacidad de retención de agua en la carne. En consecuencia, se concluyó que la carne cocinada en microondas con susceptor presentaba mejores características de ternura.

3. Modelos matemáticos en el calentamiento con microondas de alimentos utilizando susceptores

El uso de la tecnología de microondas ha crecido rápidamente

en la industria de alimentos debido a sus ventajas en comparación con el método de horneado convencional, tales como la reducción del tiempo de procesamiento y del consumo de energía, así como un mayor control del proceso (Verma *et al.*, 2020). El calentamiento por microondas se basa en la capacidad de las ondas (figura 2) para penetrar y generar calor dentro del alimento (Bhattacharya y Basak, 2016), lo que favorece que los tiempos de calentamiento sean de tres a cinco veces más rápidos que el método convencional (Verma *et al.*, 2020).

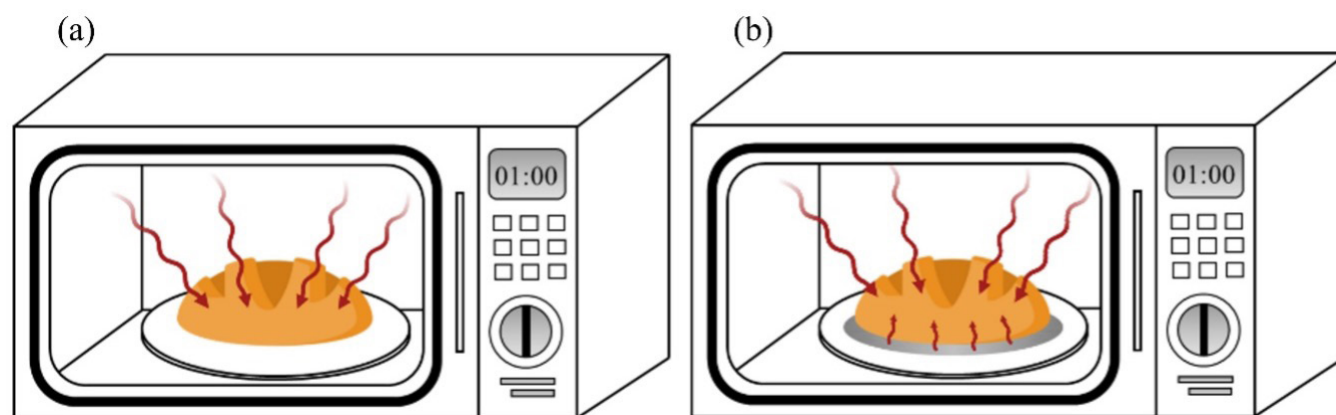


Figura 2.

Mecanismo de calentamiento del microondas sin susceptor (a) y con susceptor (b).

Los susceptores son considerados materiales disipadores de calor que se caracterizan por calentarse rápidamente debido a la acción de las microondas. Conforme el susceptor se calienta, el calor se transfiere al alimento por los mecanismos de transferencia de calor convencionales, lo que favorece la elevación de la temperatura del alimento. El calentamiento del material se produce de forma mixta con la presencia de un susceptor. Primeramente, se lleva a cabo un calentamiento convencional durante las fases iniciales y un calentamiento por microondas en las etapas posteriores. Es decir, los susceptores calientan el material

desde la superficie, mientras que los microondas calientan desde el centro, lo que permite que el alimento se someta a un calentamiento más directo y uniforme (figura 2). Este tipo de calentamiento por microondas asistido con un susceptor también se denomina calentamiento híbrido (Bhattacharya y Basak, 2016).

A pesar de que los microondas ofrecen un rápido incremento de la temperatura debido a su capacidad de generar energía térmica en el interior de los alimentos, existen algunos problemas relacionados con la distribución de la temperatura que deben considerarse. Uno de ellos es la aparición de puntos calientes y

fríos en varias zonas del alimento. Para caracterizar esta distribución de temperatura dentro de los alimentos, diversos autores han evaluado el calentamiento y la cocción por microondas mediante modelos matemáticos, ya que sus soluciones permiten obtener una descripción del proceso estudiado (Campañone y Zaritzky, 2005); las soluciones de los modelos matemáticos del calentamiento con susceptores y los efectos que producen estos materiales en los alimentos dan como resultado la obtención de alimentos seguros y deseados por el consumidor. Además, la optimización de estos modelos permitiría definir estrategias para mejorar la uniformidad en el calentamiento, lo que repercute directamente en la calidad de los alimentos desde un punto de vista microbiológico, sensorial y nutricional (Wäppling-Raaholt y Ohlsson, 2005).

El modelado de procesos de calentamiento con microondas implica resolver una parte electromagnética, descrita por las ecuaciones de Maxwell, junto con la parte térmica basada en los fenómenos de transferencia de calor (Wäppling-Raaholt y Ohlsson, 2005). Existen pocos estudios sobre la modelación del calentamiento con microondas de alimentos en presencia de susceptores. Chen *et al.* (2017) estudiaron un modelo térmico-electromagnético acoplado para describir el calentamiento de un pay previamente congelado en un horno de microondas con susceptores. Los autores demostraron que el susceptor presentaba una constante dieléctrica y un factor de pérdida elevados, lo que le permite absorber la energía del microondas. Además, observaron que la presencia del susceptor incrementaba el flujo de calor en la interfaz alimento-susceptor de 500 W/m² a 2000 W/m², lo que ocasiona que el alimento absorba inicialmente casi tres veces más energía. También se determinó que la eficacia del calentamiento con susceptor aumentaba en combinación con la rotación del horno.

Por su parte, Zuckerman y Miltz (1998) estudiaron un modelo basado en parámetros del alimento, el tiempo de calentamiento

y la resistencia superficial del susceptor para predecir los perfiles de temperatura en una masa calentada por microondas con susceptor, utilizando el método de elemento finito para la solución del modelo matemático. Durante los primeros 30 segundos de calentamiento, el susceptor absorbió entre el 60 y el 80 % de la energía del microondas, debido a su alto factor de pérdida. Posteriormente, dejó de calentarse y de absorber energía, lo que resultó en una disminución de la velocidad de calentamiento. Además, se observó que las temperaturas calculadas para el susceptor y los tiempos de calentamiento se correlacionaron adecuadamente con los valores experimentales.

Finalmente, Pitchai *et al.* (2011) desarrollaron y validaron un modelo de simulación en COMSOL Multiphysics 4.2 (COMSOL, 2011) para analizar la interacción entre un alimento modelo con un susceptor durante el calentamiento en un horno de microondas doméstico. En este estudio se emplearon dos enfoques diferentes para la solución del modelo: la discretización del dominio y la condición de frontera transitoria. Los perfiles de temperatura simulados se compararon con el calentamiento en microondas de un cilindro de gel a base de gelano al 1 % colocado junto con un susceptor. Los autores concluyeron que la condición de frontera transitoria requería solo el 20 % del tiempo de simulación necesario para el método de discretización de dominio, por lo que resulta preferible usarla para este tipo de simulación.

4. Tendencias actuales

Diversos materiales han sido probados como alternativas a los susceptores metálicos. Estos materiales se caracterizan por ser conductores o semiconductores eléctricos con altas propiedades dieléctricas, como el grafito, el carbón y el carburo de silicio (Chandrasekaran *et al.*, 2013; Haile *et al.*, 2017; Kumari *et al.*, 2020). Algunas ventajas principales de este tipo de susceptores son la diversidad de patrones y formas, menor cantidad de resi-

duos y mayor precisión en la posición del suscepto, lo que permite colocarlos en zonas específicas donde se busca calentar al alimento. Los estudios de este tipo de susceptores se han centrado en suspender partículas de materiales conductores en una matriz de polímero. Sin embargo, la eficiencia de este tipo de materiales depende de tener un control adecuado de la cantidad de partículas, con el fin de mantener un contacto efectivo entre el material y el alimento, lo que permite lograr una correcta conductividad y flujo de corriente (Bohrer y Brown, 2001; Perry y Lentz, 2020).

Por otra parte, en lo que respecta a susceptores metálicos comerciales, se han desarrollado diversos diseños con el objetivo de adaptarse al tipo de alimento para el cual serán utilizados. Asimismo, estos susceptores cuentan con tecnología avanzada para lograr el calentamiento adecuado del alimento. Algunos ejemplos de los actuales susceptores disponibles en el mercado son QuiltWave™, Qwik Crisp™, MicroFlex-Q™, Qwik Crisp™ y MicroRite™ (Inline Packaging LLC, Estados Unidos).

Las diferentes formulaciones de un alimento también pueden mejorar el calentamiento por microondas. Algunos de los ingredientes con propiedades dieléctricas importantes para el calentamiento por microondas incluyen triglicéridos, amilopectinas, amilosas, fosfatos, almidones, algunos polioles como la glicerina y el sorbitol, los monosacáridos y disacáridos, azúcares, aminoácidos, hidrolizados de proteínas y proteínas, y ciertos ácidos (Bou-Orm *et al.*, 2021). En la actualidad, el diseño de alimentos destinados al calentamiento con microondas se basa en el estudio y evaluación de la formulación en conjunto con el suscepto. De acuerdo con Shukla y Anantheswaran (2001), este enfoque del diseño debe fundamentarse en la comprensión de los principios básicos del calentamiento por microondas, la naturaleza de los fenómenos de transferencia de calor y masa, así como en la selección adecuada de los ingredientes y los empaques.

CONCLUSIONES

La aplicación de la tecnología del microondas en conjunto con materiales susceptores en la industria de alimentos es una estrategia viable debido a sus ventajas frente a métodos convencionales, como un mayor control del proceso, la reducción de tiempo y del consumo de energía, así como facilidad en la preparación de alimentos. La mayoría de los estudios actuales coinciden en que el uso de estos materiales permite obtener alimentos con atributos de calidad deseables para el consumidor, ya que favorecen un calentamiento más uniforme y directo del alimento, disminuyendo la presencia de puntos calientes y fríos.

Sin embargo, los estudios experimentales sobre el uso de susceptores aún son limitados, y su aplicación se concentra en la industria panadera y cárnica. La aplicación de estos materiales en otras áreas de la industria, como en alimentos hechos a base de frutas y vegetales, permitiría potenciar su uso. Además, existen áreas de oportunidad de estudios basadas en la evaluación de otras variables que también tienen un efecto en el calentamiento con microondas, como la formulación o los parámetros del horno. Por otro lado, es necesario el estudio y desarrollo de modelos matemáticos más robustos que involucren a estas variables y que permitan optimizar el calentamiento de alimentos mediante microondas.

AGRADECIMIENTOS

La autora Flor Elizabeth de León Serna agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo recibido para el financiamiento de sus estudios doctorales.

REFERENCIAS

- Aguilar, N., Albanell, E., Minarro, B., Gallardo, J. y Capellas, M. (2015). Influence of final baking technologies in partially baked frozen gluten-free bread quality. *Journal of Food Science*, 80(3), E619-E626. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12784>
- Albert, A., Salvador, A. y Fiszman, S. M. (2012). A film of alginate plus salt as an edible susceptor in microwaveable food. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 421-426. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.005>
- Albert, A., Varela, P., Salvador, A. y Fiszman, S. (2009). Improvement of crunchiness of battered fish nuggets. *European Food Research and Technology*, 228, 923-930. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-1005-9>
- Bhattacharya, M. y Basak, T. (2016). A review on the susceptor assisted microwave processing of materials. *Energy*, 97, 306-338. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.11.034>
- Bohrer, T. H. y Brown, R. K. (2001). Packaging techniques for microwaveable foods. En *Handbook of Microwave Technology for Food Application*. CRC Press.
- Bou-Orm, R., Jury, V., Boillereaux, L. y Le-Bail, A. (2021). Microwave baking of bread; a review on the impact of formulation and process on bread quality. *Food Reviews International*, 0(0), 1-23. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1931299>
- Campañone, L. A. y Zaritzky, N. E. (2005). Mathematical analysis of microwave heating process. *Journal of Food Engineering*, 69(3), 359-368. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.027>
- Celuch, M. y Olszewska-Placha, M. (2020). Space-discrete electromagnetic modeling of microwave susceptors. En U. Erle, P. Pesheck, y M. Lorence (Eds.), *Development of Packaging and Products for Use in Microwave Ovens (Second Edition)*, 513-529. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102713-4.00019-0>
- Chandrasekaran, S., Basak, T. y Srinivasan, R. (2013). Microwave heating characteristics of graphite based powder mixtures. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 48, 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.icheatmass-transfer.2013.09.008>
- Chen, F., Warning, A. D., Datta, A. K. y Chen, X. (2017). Susceptors in microwave cavity heating: modeling and experimentation with a frozen pie. *Journal of Food Engineering*, 195, 191-205. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.09.018>
- Clarke, C. I. y Farrell, G. M. (2000). The effects of recipe formulation on the textural characteristics of microwave-reheated pizza bases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(8), 1237-1244. [https://doi.org/10.1002/10970010\(200006\)80:8<1237::AID-JSFA630>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/10970010(200006)80:8<1237::AID-JSFA630>3.0.CO;2-8)
- Contreras, C., Benlloch-Tinoco, M., Rodrigo, D. y Martínez-Navarrete, N. (2017). Impact of microwave processing on nutritional, sensory, and other quality attributes. En *The Microwave Processing of Foods: Second Edition*, 65-99. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100528-6.00004-8>
- Das, A. y Banik, B. (2021). *Foundational principles of microwave chemistry*, 3-26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822895-1.00005-9>
- Haile, M., Sweeney, C. B., Lackey, B. A., Sarwar, O., Henderson, R., Saed, M. A., Green, M. J. y Grunlan, J. C. (2017). Ultrafast and highly localized microwave heating in carbon nanotube multilayer thin films. *Advanced Materials Interfaces*, 4(15), 1700371. <https://doi.org/10.1002/admi.201700371>
- İçöz, D., Sumnu, G. y Sahin, S. (2004). Color and texture development during microwave and conventional baking of breads. *International Journal of Food Properties*, 7(2), 201-213. <https://doi.org/10.1081/JFP-120025396>
- Kamper, S. L. y McGauley, M. A. (1994). *Edible microwave susceptor composition* (World Intellectual Property Organization Patent N.º WO1994000029A1). <https://patents.google.com/patent/WO1994000029A1/en>
- Kumari, S., Kumar, R., Agrawal, P. R., Prakash, S., Mondal, D. P. y Dhakate, S. R. (2020). Fabrication of lightweight and porous silicon carbide foams as excellent microwave susceptor for heat generation. *Materials Chemistry and Physics*, 253, 123211. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123211>
- Limited, L. I. y Burch, R. (2007). *Examination of the effect of domestic cooking on acrylamide levels in food*. Leatherhead Food International.
- Meda, V., Orsat, V. y Raghavan, V. (2017). Microwave heating and the dielectric properties of foods. En M. Regier, K. Knoerzer, y H. Schubert (Eds.), *The Microwave Processing of Foods (Second Edition)*, 23-43. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100528-6.00002-4>

- Megahey, E. K., McMin, W. A. M. y Magee, T. R. A. (2005). Experimental study of microwave baking of madeira cake batter. *Food and Bioprocess Processing*, 83(4), 277-287. <https://doi.org/10.1205/fbip.05033>
- Orsat, V., Raghavan, G. S. V. y Krishnaswamy, K. (2017). Microwave technology for food processing: an overview of current and future applications. En M. Regier, K. Knoerzer, y H. Schubert (Eds.), *The Microwave Processing of Foods (Second Edition)*, 100-116. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100528-6.00005-X>
- Ozkoc, S. O., Sumnu, G., Sahin, S. y Turabi, E. (2009). Investigation of physicochemical properties of breads baked in microwave and infrared-microwave combination ovens during storage. *European Food Research and Technology*, 228(6), 883-893. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-1001-0>
- Ozmutlu, O., Sumnu, G. y Sahin, S. (2001). Assessment of proofing of bread dough in the microwave oven. *European Food Research and Technology*, 212(4), 487-490. <https://doi.org/10.1007/s002170000276>
- Perry, M. R. y Lentz, R. R. (2020). Susceptors in microwave packaging. En U. Erle, P. Pesheck, y M. Lorence (Eds.), *Development of Packaging and Products for Use in Microwave Ovens (Second Edition)*, 261-291. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102713-4.00008-6>
- Pitchai, K., Birla, S., Raj, J. D., Subbiah, J. y Jones, D. D. (2011). Modeling of susceptor assisted microwave heating in domestic ovens. *Boston Comsol conference proceeding*.
- Regier, M. (2014). Microwavable food packaging. En J. H. Han (Ed.), *Innovations in Food Packaging (Second Edition)*, 495-514. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00020-5>
- Regier, M., Knoerzer, K. y Schubert, H. (2017). Introducing microwave-assisted processing of food: fundamentals of the technology. En M. Regier, K. Knoerzer, y H. Schubert (Eds.), *The Microwave Processing of Foods (Second Edition)*, 1-22. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100528-6.00001-2>
- Sahin, S., Sumnu, G. y Zincirlikiran, D. (2002). Effects of susceptor, coating and conventional browning applications on color and crust formation during microwave baking. *The Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy: A Publication of the International Microwave Power Institute*, 37(4), 223-236. <https://doi.org/10.1080/08327823.2002.11688481>
- Schiffmann, R. F. (2011). Technology of microwavable coated foods. En K. Kulp, R. Loewe, K. Lorenz y J. Gelroth (Eds.), *Batters and Breadings in Food Processing (Second Edition)*, 207-217. AACC International Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-891127-71-7.50017-6>
- Schiffmann, R. F. (2017). Packaging for microwave foods. En *The Microwave Processing of Foods: Second Edition*, 273-299. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100528-6.00013-9>
- Shukla, T. P. y Anantheswaran, R. C. (2001). Ingredient interactions and product development for microwave heating. En *Handbook of Microwave Technology for Food Application*. CRC Press.
- Verma, D., Mahanti, N., Thakur, M., Chakraborty, S. y Srivastav, P. (2020). *Microwave Heating: Alternative Thermal Process Technology for Food Application*, 25-67. <https://doi.org/10.1201/9780429297335-2>
- Walsh, H. y Kerry, J. P. (2012). Packaging of ready-to-serve and retail-ready meat, poultry and seafood products. En J. P. Kerry (Ed.), *Advances in Meat, Poultry and Seafood Packaging*, 406-436. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857095718.3.406>
- Wang, J., McDowell, D. J., Hahm, T. S. y Lo, Y. M. (2008). Effects of expanded polytetrafluoroethylene as a packaging material on the appearance and texture of microwave-baked soy cookies. *International Journal of Food Properties*, 11(2), 427-438. <https://doi.org/10.1080/10942910701530818>
- Wang, X., Wang, X., Muhoza, B., Feng, T., Xia, S. y Zhang, X. (2020). Microwave combined with conduction heating effects on the tenderness, water distribution, and microstructure of pork belly. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 62, 102344. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102344>
- Wäppling-Raaholt, B. y Ohlsson, T. (2005). Improving the heating uniformity in microwave processing. *The Microwave Processing of Foods*, 292-316.
- Zuckerman, H. y Miltz, J. (1998). Temperature profiles in dough heated with a susceptor in the microwave oven. *Journal of Food Processing and Preservation*, 22(1), 53-65. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1998.tb00804.x>

UDLAP[®]

Departamento de Ingeniería Química,
Alimentos y Ambiental