



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

---

**IMPORTANCIA DEL USO DE LA SOYA COMO SUSTRATO EN LA ELABORACIÓN  
DE YOGURT VEGETAL Y PRODUCTOS FERMENTADOS PARA LA OBTENCIÓN DE  
ALIMENTOS FUNCIONALES CON MÁS DE UN COMPONENTE BIOACTIVO**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**SHUNASHI DEL CARMEN HERNÁNDEZ LÓPEZ**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX**

**2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**           **Profesor: Francisco Ruiz Terán**

**VOCAL:**                   **Profesor: Armando Conca Torres**

**SECRETARIO:**       **Profesor: Juan Carlos Ramírez Orejel**

**1er. SUPLENTE:**       **Profesor: José Luis Godínez Rodríguez**

**2° SUPLENTE:**         **Profesor: Janeli Solís Garfias**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Juan Carlos Ramírez Orejel**

---

**SUSTENTANTE:**

**Shunashi del Carmen Hernández López**

---

## ÍNDICE

Resumen.....	6
Introducción.....	8
Objetivo general .....	9
Objetivos particulares.....	9
Metodología.....	10
1. Situación actual del consumo de soya y sus derivados en México.....	11
1.1 Generalidades de la soya.....	11
1.1.1 Antecedentes.....	11
1.1.2 Características de la planta .....	13
1.1.3 Cultivo.....	14
1.1.4 Valor nutricional .....	16
1.2 Productos derivados de la soya .....	19
1.2.1 Aceite de soya .....	19
1.2.2 Lecitina de soya.....	20
1.2.3 Concentrados y aislados de proteína de soya .....	20
1.2.4 Proteína texturizada de soya (PTS).....	21
1.2.5 Harina de soya.....	21
1.2.6 Productos de tipo lácteo no fermentados y fermentados.....	22
1.3 Producción a nivel mundial y nacional .....	25
1.4 Consumo de soya en México .....	28
2. El yogurt de soya: un producto fermentado en la industria de alimentos.....	30
2.1 Generalidades del yogurt .....	30
2.1.1 Historia .....	30
2.1.2 Definición.....	31
2.2 Elaboración del yogurt de soya .....	32

3.	El yogurt de soya como alimento funcional.....	37
3.1	Alimentos funcionales .....	37
3.1.1	Historia .....	37
3.1.2	Definición.....	38
3.1.3	Mercadotecnia y legislación.....	40
3.2	Beneficios en la salud por el consumo de yogurt de soya.....	43
3.2.1	Propiedades funcionales del yogurt: papel de los probióticos .....	44
3.2.2	El papel de los componentes de la soya en la prevención del cáncer	49
3.2.3	La participación de los componentes de la soya en la prevención de enfermedades cardiovasculares .....	51
3.2.4	Intervención de los componentes de la soya en la prevención y tratamiento de las afecciones óseas.....	53
3.2.5	Indicaciones terapéuticas de los componentes de la soya en la afección renal y el control de Diabetes Mellitus .....	55
3.2.6	Control y uso terapéutico de los componentes de la soya en la menopausia .....	56
3.2.7	Integración de los componentes de la soya a la dieta como prevención y tratamiento de la obesidad.....	59
3.2.8	Indicación terapéutica de los componentes de la soya como alternativa al consumo de productos lácteos.....	62
4.	Los péptidos bioactivos (PBAs) en el yogurt de soya .....	63
4.1	Introducción a los PBAs .....	63
4.1.1	Definición.....	63
4.1.2	Generación de los PBAs.....	63
4.1.3	Aspectos regulatorios .....	66
4.2	Presencia de PBAs en el yogurt de soya .....	67
4.2.1	Origen de los PBAs en el yogurt de soya .....	67
4.2.2	Actividades biológicas de los PBAs .....	72

5. Tecnología de elaboración de los productos fermentados tradicionales de la soya y su concepto como alimentos funcionales.....	84
5.1 Elaboración de los productos fermentados tradicionales de la soya .....	84
5.1.1 Salsa de soya .....	89
5.1.2 Miso .....	94
5.1.3 Sufu .....	97
5.1.4 Tofuyo.....	101
5.1.5 Tempeh .....	104
5.1.6 Natto .....	107
5.2 Componentes bioactivos de los productos fermentados tradicionales de la soya y sus beneficios a la salud del consumidor .....	110
Discusión.....	125
Conclusiones.....	129
Perspectivas.....	130
Bibliografía .....	131

## Resumen

La soya es una leguminosa que está constituida por 35-40% de proteínas, 15-20% de lípidos, 30% de carbohidratos (del cual 9% corresponde a fibra dietética), 9% de agua y alrededor del 5% de cenizas. Su producción mundial oscila entre 320 y 350 millones de toneladas en los últimos 5 años, mientras que en México su producción actual es alrededor de 470 mil toneladas por año. Dada la composición que presenta esta leguminosa, es uno de los alimentos más consumidos en países de la región asiática, como China, donde su consumo per cápita fluctúa entre 8,8 y 9,1 kg/año. Debido a que el consumo nacional de soya es bajo, comparado con otros países, en el presente trabajo se realizó una investigación para dar a conocer todos los beneficios de la soya y de los principales productos derivados de la fermentación, desde una perspectiva química, tecnológica y nutricional. Para cumplir con este propósito se realizó una recopilación de información sobre los beneficios nutricionales de la semilla de soya, desde su origen hasta la obtención de sus subproductos. En México la tasa de enfermedades crónico-degenerativas ha ido en aumento en los últimos 15 a 20 años, es por ello que la industria de alimentos está buscando nuevas estrategias para ofrecer alimentos que además de nutrir aporten otros beneficios. Uno de los alimentos que más se ha estudiado en los últimos años para lograr el consumo de productos funcionales es el yogurt, el cual es conocido y aceptado en la alimentación mexicana, pero sobre todo, es un medio en el cual se generan péptidos bioactivos que pueden tener actividad biológica específica, sin embargo, debido a las alergias que presentan sus proteínas o a la intolerancia que su ingesta puede provocar, no es un alimento de acceso libre a toda la población, por ello en el presente trabajo se revisaron a detalle los beneficios del consumo de un alimento fermentado (tipo yogurt). Este producto, así como otros alimentos derivados a partir de la fermentación de la soya, se caracteriza porque durante su proceso de obtención se producen compuestos bioactivos que benefician la salud del consumidor, entre los cuales se ha reconocido la presencia de péptidos bioactivos como elementos clave en la influencia positiva que ejercen tras su consumo, sin embargo, los estudios científicos que se han realizado para respaldar tales beneficios, demuestran la existencia y participación de otros componentes como la fibra, los ácidos grasos insaturados, los probióticos y las

isoflavonas. La detección y el reconocimiento de los compuestos que hacen de la soya fermentada un alimento funcional, permite conocer estrechamente sus cualidades y brinda la confianza al consumidor de que será un alimento seguro, motivo por el que su propagación se ha facilitado para llegar a otros países. Como uno de los intereses de este trabajo es fomentar, en general, el consumo de los productos fermentados de soya, también se investigó de forma exhaustiva algunos de los más representativos en la cultura tradicional asiática, entre los cuales se incluyen el tempeh, natto, miso, salsa y tofu fermentado. Aunque estos productos y el yogurt de soya provengan de la misma fuente, las características y propiedades que cada uno posee son únicas; esta diferencia entre uno y otro es establecida por el proceso de elaboración que cada uno sigue, lo que determina la presencia de ciertos componentes y, por lo tanto, su acción en el organismo. La variedad de los subproductos fermentados de la soya radica en la versatilidad que ésta tiene para ser modificada de diferentes maneras, pero bajo el mismo fundamento de procesamiento, que es la fermentación, por lo que esto a su vez representa una gran ventaja para el consumidor cuando busca opciones que se adapten a sus gustos, su estilo de vida y su estado de salud. En conclusión, la soya es una fuente vegetal muy valiosa y completa nutricionalmente, su aplicación en la industria es amplia pero los productos más sobresalientes son aquellos que pasan por un proceso de fermentación, ya que su composición es mejorada potencialmente y, por lo tanto, ejercen diferentes actividades biológicas en el organismo que promueven la salud del consumidor. Se espera que el contenido de esta investigación aporte al lector mayor conciencia sobre el consumo preferente de la soya fermentada para que con ello, sea apoyada su producción y difusión nacional.



## Introducción

México es uno de los países en el que la incidencia de enfermedades de alto riesgo ha ido en aumento, razón por la que la industria de alimentos ha innovado en productos que puedan contribuir positivamente a la salud del consumidor. Por ello, ha surgido un gran interés en la elaboración de productos de origen vegetal que representen una alternativa a los productos de origen animal pero además de eso, que brinden los mismos o mejores beneficios; a partir de esto se ha implementado el uso de uno de los alimentos más saludables y versátiles: la soya.

La semilla de soya o frijol de soya cobra una singular importancia por su contenido en proteínas de alta calidad, fibra, isoflavonas, ácidos grasos y compuestos químicos (fitoquímicos), además de ser reconocida por la enorme variedad de productos comerciales elaborados con ella. Sin embargo, el empleo de la soya, ya sea como frijol o procesada en harina, en realidad tiene una participación muy precaria en el consumo nacional; de ahí que los principales productos utilizados de la soya, tanto a nivel nacional como internacional, son el aceite y la pasta. Actualmente, con base en una propuesta que promueva el consumo humano de los alimentos derivados de la soya, existe un grupo de empresarios mexicanos conocido como Asociación Mexicana de Alimentos de Soya (AMAS), ésta fue fundada el 16 de noviembre de 2010 en la Ciudad de México y ha designado que el mes de la soya sea octubre. Esta iniciativa busca desarrollar un mercado y una cultura de mejora alimentaria que sea incluyente para los alimentos con un alto nivel nutricional que ayuden a hacer frente a la problemática social de salud en México.

Los productos derivados de la soya pueden dividirse, según su procesamiento, en productos fermentados y no fermentados. Los productos no fermentados incluyen las semillas enteras, los brotes, harina, aceite, tofu, análogos de carne y bebida de soya; por otra parte, los alimentos fermentados incluyen el tempeh, natto, miso, salsa, tofu fermentado, yogurt de soya, entre otros. La soya per se es benéfica para la salud, es un alimento muy completo y nutritivo, pero para aprovechar al máximo sus propiedades es preferible consumirla fermentada. La clave de los beneficios de la soya fermentada radica en el efecto que el proceso de la fermentación genera sobre sus componentes, ya que es capaz de reducir los

niveles de antinutrientes que interfieren con su asimilación y digestibilidad, así como de mejorar la biodisponibilidad y concentración de sus nutrientes.

La soya sin fermentar presenta altos niveles de ácido fítico o fitatos, considerados antinutrientes, que bloquean la absorción de minerales, como el calcio y el hierro. Cuando la soya es fermentada, este inconveniente no se presenta porque los fitatos disminuyen notablemente, por lo que muchos de los minerales aportados por la soya pueden ser aprovechados por el organismo. De la misma manera, los alimentos fermentados de la soya pueden mostrar un incremento en sus niveles de isoflavonas, compuestos a los que se les ha atribuido propiedades anticancerígenas. Aunado a esto, la fermentación hace de la soya un alimento probiótico que aporta un equilibrio en la microbiota intestinal y, por lo tanto, una mejora en la función intestinal. La transformación de fibra insoluble evita que haya alteraciones en la digestión y en general, el incremento de la digestibilidad, respecto a la soya sin fermentar, puede pasar de un 65% a un 95%. Por ello, la soya fermentada ha reportado resultados positivos en el organismo, principalmente en el sistema digestivo, inmune, cardiovascular y nervioso central, lo que le da el reconocimiento como un alimento funcional.

### **Objetivo general**

Investigar los principales productos derivados de la fermentación de la soya, desde una perspectiva química, tecnológica y nutrimental, así como su importancia actual en la alimentación mexicana.

### **Objetivos particulares**

- Describir el origen de la soya, sus productos derivados, su importancia nutricional y su demanda nacional a nivel producción y consumo.
- Relacionar el término “alimento funcional”, mediante la acción de componentes bioactivos, con los beneficios aportados por un alimento fermentado de soya.
- Promover el consumo de alimentos fermentados de soya, a través de sus propiedades funcionales, como una alternativa a los productos de origen animal.

## **Metodología**

La búsqueda de la información se realizó en bibliotecas digitales y de manera presencial en la Biblioteca Central de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), la biblioteca de la Facultad de Química de la UNAM, la biblioteca Vasconcelos y la biblioteca Daniel Cosío Villegas perteneciente a El Colegio de México. Para esto, se usaron palabras claves relacionadas con el tema de interés y sus objetivos, entre éstas fueron: soya, yogurt, yogurt vegetal, bebidas/leches vegetales, alimentos funcionales, alimentos fermentados, péptidos bioactivos, química de alimentos y tecnología de alimentos. Con base en el contenido de los libros, documentos y/o artículos hallados a través de la base de datos, fueron seleccionados los más completos, considerando que la información hallada no fuera tan obsoleta; esto último principalmente para aquellos datos que hagan referencia a información estadística.

## 1. Situación actual del consumo de soya y sus derivados en México

### 1.1 Generalidades de la soya

#### 1.1.1 Antecedentes

La soya, leguminosa nutritiva, es tan milenaria como el trigo o las lentejas, su uso se remonta al continente asiático hace aproximadamente 5000 años y ha jugado un importante papel en la alimentación de los pueblos orientales. Se cree que los primeros escritos sobre la soya datan del 2838 a.C. Los chinos la consideraban como un alimento sagrado y se atribuye su difusión al emperador Sheng-Nung, personaje que aportó a la agricultura y la medicina en China (Álvarez y Bague, 2011b). Por este motivo, varios de los productos de la soya tienen nombres asiáticos. Actualmente, los científicos suelen atribuir la salud cardíaca y la longevidad de esas poblaciones a sus dietas ricas en soya.

Primero fue llevado al continente europeo y posteriormente, llegó a América. La entrada del frijol de soya a los Estados Unidos fue a mediados del siglo XVIII, aunque su aceptación como cultivo para la alimentación fue lento, ya que en un inicio fue considerado como un alimento para engorda animal. Sin embargo, esta opinión empezó a cambiar a principios del siglo XX gracias al trabajo de personajes como Henry Ford que comenzaron a explorar el papel de la soya como fuente de nutrición humana. Conforme avanzó el siglo, la soya fue ingresando a la dieta de los estadounidenses a pesar de la disyuntiva por parte de los habitantes debido al gusto asiático desconocido de los productos y/o a la forma deficiente de su elaboración (ASA y USB, 2009). El ingreso de la soya en algunos países de América Latina se dio, en parte, para combatir una lucha en contra de la desnutrición de niños de familias que no contaban con los recursos necesarios para adquirir fuentes de proteína provenientes de leche, carne y huevo.

Gran parte del interés en el consumo de la soya, el conocimiento de su preparación y sus posibles usos en México y otros países de Latinoamérica, se debe a la Asociación Americana de la Soya (ASA). En el año de 1971 México fue seleccionado como su sede ya que sobresalió como el principal importador de aceite de soya y otros productos derivados provenientes de Estados Unidos de América. Durante la década de 1970, México fue reconocido por ser uno de los

primeros países latinoamericanos que desarrolló diferentes productos con soya, en los que se ha utilizado la proteína de soya en un contenido del 20-30% con el fin de economizar algunos productos mediante el enriquecimiento o sustitución de las proteínas de origen animal.

En 1975 se realizó la primera conferencia latinoamericana sobre la proteína de soya en la que se intercambiaron experiencias con el uso de la soya en el Programa Nacional de la Alimentación (PRONAL) en México, donde uno de los usos de la soya fue como un añadido de las bebidas de leche (SOYACIT), pastilla comprimida de leche, entre otros. A pesar del precio relativamente bajo del frijol de la soya, los productos más elaborados con ésta presentaban costos más altos al público consumidor, limitando el mercado a sectores de la población con un alto poder adquisitivo. Fue por esta razón que en el mismo año se inició en México, en el Instituto Nacional de la Nutrición, un Programa de Tecnología de Alimentos de Interés Social bajo el patrocinio de PRONAL, para mejorar la alimentación de aquellos sectores de la población mal alimentados, mediante el diseño de productos de alto valor nutritivo, de bajo costo y fácil conservación y distribución, entre los cuales fue considerada la soya.

Inicialmente, la proteína de soya no fue bien aceptada para uso humano debido a los resultados discrepantes que se obtuvieron en una evaluación llevada a cabo sobre ratas. Sin embargo, en 1989 el comité de expertos de la FAO/OMS evaluó la calidad de la proteína, determinando que este parámetro se puede calificar adecuadamente al expresar el contenido del aminoácido indispensable más limitante como un porcentaje basado en un patrón de aminoácidos indispensables (Torres y Tovar, 2009).

En los últimos 30 años poco a poco ha cambiado el concepto de este alimento. La calidad de los productos de soya ha mejorado bastante y cada vez se están desarrollando y elaborando más productos de soya encaminados particularmente al gusto y estilo de vida occidental. Adicionalmente, hay una cantidad creciente de investigación científica verosímil que apoya los efectos benéficos de la soya en la salud. Estos dos avances son los responsables de incrementar el atractivo de los alimentos de soya ante los ojos de los consumidores y, por lo tanto, de acelerar el

ingreso a su propia dieta. En relación con esto, la Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration (FDA)) ha señalado que, si se consumen 25 g de proteína de soya al día, se reduce el riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares (ASA y USB, 2009).

### 1.1.2 Características de la planta

El nombre botánico de la soya es *Glycine max* de la familia de las Papilionáceas, mejor conocidas como Leguminosas (Wilmont, 2004). Es una leguminosa de ciclo anual, de porte erguido con o sin ramificaciones, de altura variable entre 50 y 150 cm, con un sistema radicular entre 40 y 100 cm, débilmente pivotante y con abundante superficie foliar. Posee hojas grandes, trifoliadas y pubescentes; son de color verde, que amarillean pronto en la mayoría de las variedades y se desprenden al madurar, quedándose la planta sin hojas. Sus flores se ubican en las axilas de las hojas, son pequeñas, de color blanco-amarillento o azul-violáceo y se encuentran agrupadas en inflorescencias (Larralde, 2000; Sanz *et al.*, 2007a).

Las inflorescencias sobre el tallo fecundan y producen vainas que son largas de 2.5-9.5 cm, entre 25-40 por planta y generalmente contienen de 3-4 semillas de color amarillo claro, verde, marrón oscuro o negro. Estas semillas corresponden al frijol de la soya, la única parte de la planta que consume el humano y el fruto típico de esta familia de plantas. El grano varía en forma desde esférico hasta ligeramente ovalado; las características, como su peso y tamaño, van a depender de las condiciones de cultivo.

Morfológicamente, el grano de soya consta de 3 partes principales: la cobertura del grano, también conocida

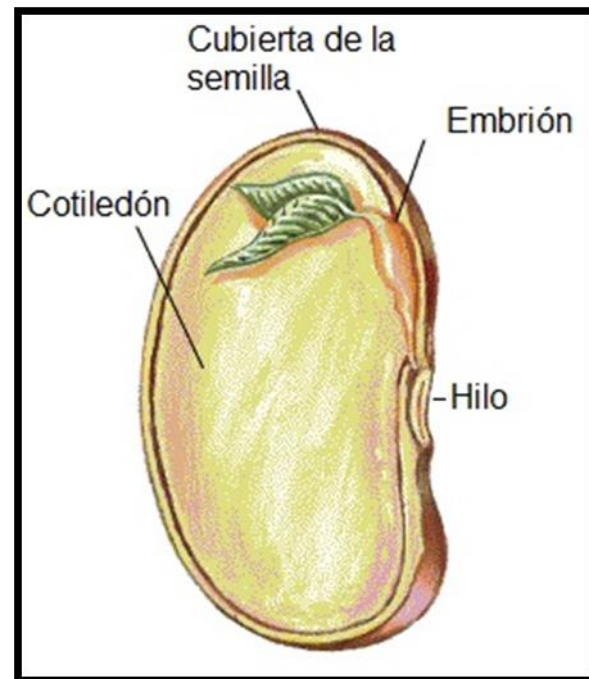


Figura 1.1. Estructura general de una leguminosa

Fuente:

<http://www.edualimentaria.com/legumbres-composicion-y-propiedades>

como testa o cáscara, los cotiledones y el germen o embrión (Ver Figura 1.1). El grano de soya comercial constituye aproximadamente un 8% de cáscara, 90% cotiledón y 2% el germen (ASA, 2005). La testa del grano forma la mayor parte externa del mismo, contiene un área fácilmente identificable conocida como hilium (hilo) que tiene un color distinto al resto de la cobertura del grano. Algunas variedades tienen un hilium negro, otras grises o de color café; las variedades de hilium claro son generalmente preferidas para procesamiento ya que el hilium oscuro puede contaminar los productos elaborados.

Dentro de la cobertura del grano puede distinguirse la cutícula, seguida de las células empalizadas, una capa de células de forma distintiva de reloj de arena y varias capas de células de parénquima. La presencia de las células en forma de reloj de arena, fácilmente identificables, sirve como un método cualitativo para detectar los ingredientes de soya añadidos a los productos alimenticios (ASA, 2004).

El cotiledón está cubierto por una capa de células de parénquima y células aleuronas. El cotiledón por sí mismo tiene una epidermis y el interior está lleno de células elongadas tipo empalizadas; estas células contienen la mayoría de la proteína y el aceite. El grueso de la proteína de soya está almacenado en cuerpos proteínicos dentro de estas células (ASA, 2005).

### 1.1.3 Cultivo

La soya se desarrolla óptimamente en regiones cálidas y tropicales (subtropicales de Asia y cálidas-húmedas en Estados Unidos). Aunque originalmente fuera de un cultivo subtropical, en la actualidad se dispone de numerosas variedades de soya; por otra parte, dependiendo del uso al que se destine la cosecha, se siembran unos tipos de semillas u otros. En Estados Unidos cuentan con muchas variedades e híbridos, entre ellos, algunos de ciclo muy corto (ultratempranas) que maduran en mes y medio o 2 meses y otros de ciclo largo (tardías) que lo hacen en 6 meses o más.

La soya es sensible a las variaciones climáticas bruscas y sobre todo necesita un clima templado, cálido en verano y húmedo. Para germinar requiere una temperatura mínima de 8°C, para madurar, 12°C, y para la floración, 20°C. La

etapa de germinación es la más delicada, pues tanto la sequía como la humedad excesiva le perjudican mucho y pueden resultar fatales. La soya es una planta sensible a la duración del día; es decir que, para la floración de una variedad determinada, se hacen indispensables unas cuantas horas de luz, mientras que para otra no. En algunos casos, la planta es muy sensible a la luz por lo que la radiación solar controla la transformación del periodo vegetativo al de la floración y afecta la velocidad de crecimiento durante la etapa de maduración.

El mejor terreno de cultivo es el de estructura suelta, limoso arcilloso y con algo de arena; requiere un laboreo profundo (30-40 cm) para preparar convenientemente el terreno para la siembra. Generalmente se abona en cobertura con superfosfato (600 kg/ha) y desde hace un tiempo suele hacerse un segundo abonado con urea (100-150 kg/ha). El cultivo se desarrolla en suelos neutros o ligeramente ácidos, con un pH entre 6 y 7 se consiguen buenos rendimientos. La soya se puede cosechar en diferentes ciclos agrícolas y puede formar parte de la rotación de cultivos, ya que promueve la fijación de nitrógeno atmosférico a través del desarrollo de nódulos que fertilizan la tierra.

Respecto a la humedad, durante su cultivo la soya necesita entre 300 y 700 mm de agua que pueden ser en forma de riego cuando se trata de regadío, o bien en forma de lluvia en aquellas zonas templadas húmedas en donde las precipitaciones son suficientes. Como en cualquier cultivo, las necesidades de agua son importantes en cada fase fisiológica, pero en el caso de la soya hay una fase especialmente crítica y es la de la floración y formación de las vainas (Sanz *et al.*, 2007a).

Las variedades de soya se clasifican en grupos, en función de la duración de su ciclo vegetativo y su madurez. Otros criterios de elección de una determinada variedad son:

- El uso del frijol de soya, ya sea para extracción de proteínas, extracción de aceite, fines cosméticos, etc.
- Duración del día, situación geográfica y el periodo de siembra, condiciones de temperatura, humedad y suelo.



Existen más de 3000 variedades de soya con ciclos vegetativos que fluctúan desde los 90 días hasta cerca de los 200; de igual manera, presentan diferentes exigencias en cuanto a la duración del día y diferentes características genéticas (Larralde, 2000).

#### 1.1.4 Valor nutricional

La composición de la semilla de soya varía en función de la variedad y las condiciones de cultivo; esta leguminosa es una importante fuente de proteínas y aceite y, por lo tanto, un alimento con alto valor nutricional. Típicamente, las semillas de soya están constituidas por 35-40% de proteínas, 15-20% de lípidos, 30% de carbohidratos (del cual 9% corresponde a fibra dietética), 9% de agua y alrededor del 5% de cenizas.

El contenido de proteína en el frijol de soya representa un porcentaje elevado para las plantas; adicionalmente, toda esa proteína es completa, lo que significa que contiene todos los aminoácidos (aas) necesarios para sostener la vida humana, en las proporciones correctas. Esto es debido a que el frijol de soya fija su propio nitrógeno, lo que le permite producir los 9 aas esenciales, los cuales son mencionados en la Tabla 1.1, incluyendo las cantidades en las que pueden hallarse naturalmente y según el producto de soya del que se trate. Como ya se mencionó, las proteínas son el componente más abundante de la soya, de las cuales entre el 80-90% son proteínas de reserva. Se pueden clasificar en función de sus coeficientes de sedimentación en gradiente de sacarosa; de acuerdo con este criterio, las proteínas de soya se agrupan en 4 fracciones fundamentales: 15S (posiblemente es un polímero de la glicinina), 11S (rica en glicinina), 7S (compuesta por  $\beta$ -conglucina,  $\gamma$ -conglucina, lipooxigenasa,  $\alpha$ -amilasa y hemaglutinina) y 2S (citocromo c y proteínas inhibidoras de enzimas (factor Bowman-Birk y de Kunitz)). Las fracciones 11S, 7S y 2S constituyen la mayor parte de las proteínas de reserva (>85%) (Liu, 1997; Guo, 2009).

Tabla 1.1 Contenido de aminoácidos esenciales en la soya y algunos productos derivados

<b>Aminoácidos esenciales</b>	<b>Soya</b>	<b>Aislado de proteína de soya</b>	<b>Concentrado de proteína de soya</b>
	mg/g proteína		
Histidina (His, H)	27	29	25
Isoleucina (Ile, I)	48	53	46
Leucina (Leu, L)	67	66	62
Lisina (Lys, K)	81	84	77
Metionina (Met, M) y cisteína (Cys, C)	30	27	27
Fenilalanina (Phe, F) y tirosina (Tyr, Y)	65	97	88
Treonina (Thr, T)	43	39	39
Triptófano (Trp, W)	15	14	13
Valina (Val, V)	50	51	48
<b>Aminoácidos totales</b>	36.5	80.7	63.6

Fuente: Young, 1991

Los carbohidratos son el segundo compuesto más abundante de la soya, lo que indica que tienen un importante valor económico para la industria de los alimentos. Los granos de soya contienen una mezcla de carbohidratos solubles e insolubles (fibra dietética).

La fracción de carbohidratos solubles está constituida por sacarosa y oligosacáridos que representan alrededor del 10% de los componentes de la soya. Los oligosacáridos de la soya (rafinosa y estaquiosa) varían en contenido en función de la variedad y las condiciones agronómicas (Bainy *et al.*, 2008). Cabe mencionar que estos oligosacáridos son considerados carbohidratos prebióticos debido a determinados efectos de la soya en el organismo, como son: incremento de la población de bifidobacterias en el colon, lo cual contribuye a suprimir el

efecto de las bacterias con actividad putrefacta; prevención de la diarrea patogénica y autógena por el mecanismo antagonista de bifidobacterias en el colon; protección hepática al reducir los metabolitos tóxicos; efectos anticancerígenos; reducción de la presión sanguínea; entre otros (Roberfroid, 2007).

La fracción de carbohidratos insolubles de la soya proviene fundamentalmente de la cáscara (87%) y de las estructuras de la pared celular del grano, se compone mayoritariamente por polisacáridos no celulósicos y minoritarios celulósicos (Bainy *et al.*, 2008). La fibra de soya presenta efectos benéficos desde el punto de vista funcional, nutricional y fisiológico, ya que este tipo de fibras llegan a ser efectivas en la prevención y el tratamiento del estreñimiento. Por este motivo suele añadirse a diversos alimentos; de acuerdo con esto, existen 2 fuentes de fibra comercialmente disponibles: una obtenida a partir de la cáscara entera del grano y otra, a partir del cotiledón (Slavin, 1991; Riaz, 2006).

La mayor proporción de componentes grasos de la soya corresponden a ácidos grasos insaturados. En el perfil de ácidos grasos del aceite de soya destacan el ácido oleico ( $\omega$ -9, 22%), linoleico ( $\omega$ -6, 54%) y linolénico ( $\omega$ -3 para el isómero  $\alpha$  u  $\omega$ -6 para el isómero  $\gamma$ , 7.5%). Los ácidos grasos oleico y del tipo  $\omega$ -3 ejercen efectos antiaterogénicos por lo que su presencia en la soya se asocia con sus propiedades para prevenir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Por otra parte, la soya presenta fitoesteroles, tocoferoles (vitamina E) y un bajo contenido en ácidos grasos saturados (Riaz, 2006).

La soya contiene una amplia gama de minerales (calcio, hierro, cobre, fósforo y zinc), que se refleja, a su vez, en un alto valor de cenizas (5-6%). Sin embargo, la biodisponibilidad de estos micronutrientes se ve disminuida por la presencia de fitatos, los cuales actúan como antinutrientes en este proceso. Esta desventaja se ve notablemente eliminada en alimentos fermentados de soya o fortificados con minerales.

Las vitaminas que componen a la soya son: tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), niacina (B3), ácido pantoténico (B5), biotina, ácido fólico,  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina A), inositol, colina y ácido ascórbico (vitamina C). La harina

integral de soya puede cubrir en humanos desde el 33-50% de las vitaminas del complejo B, si es ingerida una cantidad que aporte la mitad del requerimiento proteico para un adulto (Ridner, 2006b).

## 1.2 Productos derivados de la soya

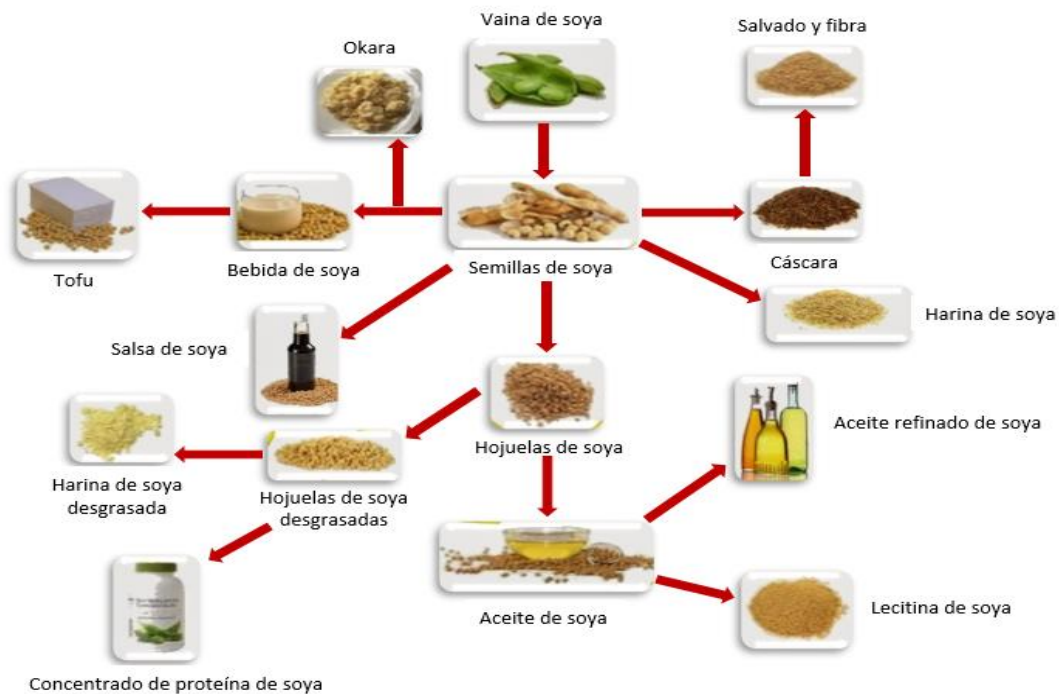


Figura 1.2. Productos derivados de la soya más representativos

### 1.2.1 Aceite de soya

El aceite de soya es uno de los aceites comestibles más comunes y versátiles del mundo. Mundialmente, desde 1945, se obtiene a partir de las semillas de la soya por extracción con solventes. Después de esto, es necesario realizar un proceso de refinación para removerle algunas impurezas y compuestos de sabor, olor y color.

Algunas de las características del aceite de soya, que lo hacen tan popular, son:

- ✓ Color claro
- ✓ Sabor y aroma neutros
- ✓ Muy alto punto de humeo (234°C)
- ✓ Está disponible fácil y confiablemente
- ✓ Alto en grasas insaturadas

✓ Presencia de fitoesteroles

Estos atributos lo hacen un excelente aceite para freír, parrillar y sofreír; incluso es ideal para preparar aderezos para ensaladas, marinados y mezclas para rebozar.

Actualmente existen 4 tipos de aceite de soya en el mercado: aceite de soya regular, aceite de soya hidrogenado, aceite de soya parcialmente hidrogenado y los nuevos aceites de soya bajos en o sin grasas trans (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009).

### 1.2.2 Lecitina de soya

La lecitina de soya se aísla del aceite de soya y es un producto que constituye aproximadamente el 1.5-2.5% de los lípidos presentes en la soya. Comercialmente se puede hallar disponible en su forma natural y modificada. Los fabricantes de alimentos la usan como emulsionante, estabilizante y antioxidante en una amplia gama de productos (Ridner, 2006b; ASA y USB, 2009).

### 1.2.3 Concentrados y aislados de proteína de soya

Los concentrados y aislados de proteína de soya se obtienen al refinar aún más las hojuelas de soya; en este caso, para incrementar los porcentajes de proteína.

El concentrado de proteína de soya es un polvo que contiene 60-70% de proteína, es considerada una fuente altamente digestible de aas y se usa ampliamente en la fabricación de alimentos para mejorar la retención de humedad o los niveles de proteína. Estos productos se están usando principalmente en carnes molidas (las hace más jugosas) y en productos de panificación (agregan más proteína).

El aislado de proteína de soya es un polvo que tiene 90-95% de proteína. Se usa frecuentemente en la fabricación de alimentos para incrementar los niveles de proteína y disminuir los carbohidratos; algunas de sus aplicaciones son en malteadas altas en proteína, productos de panificación de especialidades, pastas, etc (ASA y USB, 2009).

Los concentrados, igual que las proteínas purificadas, son buenos emulsionantes y fijadores del sabor; en cambio, para desarrollar las capacidades espumantes se emplean los aislados proteicos y la proteína hidrolizada (Ohr, 2004).

#### 1.2.4 Proteína texturizada de soya (PTS)

Es un producto que como los concentrados y aislados proteicos, está hecho a partir de hojuelas de soya desgrasadas que se procesan, se combinan con agua, después se cuecen y se transforman en una amplia gama de formas, tamaños, colores, aromas y perfiles de sabor. Normalmente contiene 50% de proteína, además de la fibra dietética y los carbohidratos solubles del frijol de soya.

La PTS es uno de los principales ingredientes utilizados para hacer los sustitutos de carne, los cuales son productos a base de soya que se formulan para que se vea, sepa y se consuma como un producto cárnico tradicional, por lo general, pollo, res o cerdo. Aunque en un principio no fue bien aceptada porque sus características organolépticas pueden variar con respecto a las carnes que emula, su calidad ha ido mejorando hasta llegar a niveles altamente aceptables, esto gracias a la investigación intensa y los enormes avances tecnológicos de la actualidad.

Los productos secos de PTS por lo general se venden como migas o en tiras y deben hidratarse en agua caliente antes de usarse en una receta. Mientras que los productos texturizados congelados están listos para usarse inmediatamente después de descongelarse (ASA y USB, 2009).

#### 1.2.5 Harina de soya

La harina de soya se elabora a partir de la molienda de las hojuelas desgrasadas ligeramente tostadas, las hojuelas son lo que queda en el proceso después de que se ha triturado el frijol de la soya para la producción del aceite; de acuerdo a los distintos tratamientos que se le dé, puede tener diferentes presentaciones según su concentración de proteína: harina integral de soya, harina desgrasada y sémola de soya (ASA y USB, 2009). Se presenta en el mercado mundial bajo 2 formas: bruta (o con sus enzimas activas) y desactivada, cuyas enzimas se han destruido tratando a las semillas térmicamente. La primera solía usarse en la elaboración de pan comercial corriente, a cuya harina se le adicionaba 1-2%; ahora, suele incorporarse como blanqueador de la harina debido a la lipooxidasa que contiene. Por otra parte, la harina desactivada se emplea en la formulación de algunos tipos de pasteles, tartas y galletas (Sanz *et al.*, 2007b).

La harina de soya presenta un color ligeramente amarillo y una textura similar a la harina de trigo integral. Esta harina es diferente a la de trigo principalmente de 3 maneras relevantes:

- ✓ Contenido de proteína: la harina de soya tiene, en promedio, 50% de proteína contra 15% de proteína de la harina de trigo de alta proteína.
- ✓ Composición de la proteína: la harina de soya no contiene gluten, a diferencia de la harina de trigo que sí lo presenta. Por este motivo, llega a ser necesario combinar ambas harinas para preparar pasteles, panes y/o panqués tipo muffin.
- ✓ Contenido de grasa: diferentes cantidades de aceite de soya se retiran de la harina de soya para crear harinas con diferentes propiedades funcionales; estas presentaciones son: con grasa completa, baja en grasa y desgrasada.

En general, este producto puede usarse con éxito en empanizados salados, para hornear y para alimentos sofritos o fritos en abundante aceite (ASA y USB, 2009).

#### 1.2.6 Productos de tipo lácteo no fermentados y fermentados

##### Productos de tipo lácteo no fermentados

Las proteínas de soya pueden emplearse en la elaboración de bebidas ácidas y neutras tanto en solitario como conjuntamente con otras fuentes de proteínas tales como las de origen lácteo. Con base en esto, se ha introducido el consumo de “leche” o bebida de soya como un sustituto de la leche de vaca, considerando su fácil digestión; otro alimento lácteo no fermentado de creciente popularidad son las leches suplementadas con isoflavonas de soya. Entre las bebidas cuya formulación incluye como única fuente de proteínas a las de soya caben destacar fórmulas infantiles, bebidas para cubrir necesidades nutricionales específicas, sucedáneos o sustitutos de la leche de vaca y bebidas para el control del peso, entre otras (Singh *et al.*, 2008).

Actualmente, uno de los productos aceptados ampliamente en la región occidental es la bebida de soya, ésta es un líquido derivado de remojar el frijol de soya molido en agua caliente. Dado que este producto viene de una fuente vegetal, no tiene ni lactosa ni la grasa que se encuentra en la leche de vaca. Por eso mismo y

por su aspecto similar al de la leche, puede ser un sustituto de dicho alimento para aquellos individuos que son alérgicos a la proteína de la leche o intolerantes a la lactosa.

Para elaborar la bebida de soya, se remoja el frijol de soya de un día para otro en agua, después se muele y se mezcla con agua fría o caliente. Se deja hervir la mezcla líquida y se pone a fuego lento; durante este tiempo el frijol de soya deja en infusión sus proteínas, grasas y almidones en el agua. Se filtra la “infusión” para separar los residuos sólidos del líquido; dicho líquido es la bebida de soya y los sólidos se conocen con el nombre de “okara”, un tipo de fibra de soya que constituye una rica fuente de fibra dietética. La bebida de soya que se cuele de la okara naturalmente no es dulce; si se deja sin endulzar, se comercializa como de “sabor natural”, sin embargo, también puede adquirirse como una bebida aromatizada con sabores distintos (vainilla, fresa, naranja, etc.) (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009).

Algunas aplicaciones culinarias para la bebida de soya incluyen las siguientes: salsas blancas espesas, sopas y productos de panificación salados, cereales calientes para el desayuno, productos de panificación dulces y flanes. La bebida de soya también es el punto de arranque para elaborar los productos de soya coagulada y algunos productos fermentados de soya (ASA y USB, 2009).

Uno de los productos resultantes de la coagulación de la bebida de soya es el tofu; en su aspecto se parece a un queso fresco, recién hecho, o a un yogurt bastante firme. En términos simples, el tofu es proteína de soya que ha sido coagulada formando una masa homogénea y en muchos aspectos, se asemeja al proceso de elaboración de quesos. De acuerdo con el procedimiento para elaborar la bebida de soya, al líquido resultante de la filtración se le añade un coagulante (sulfato cálcico, glucono delta-lactona o cloruro magnésico) y se deja estar media hora aproximadamente para que coagule. Terminada la coagulación, se prensa el coágulo obtenido para eliminar el líquido, con lo que se obtiene el tofu firme o prensado; si se prefiere el tofu blando o “sedoso”, se prescinde del prensado (Sanz *et al.*, 2007b).



Cada categoría de tofu es más apropiada para tipos de preparaciones culinarias totalmente diferentes. El tofu empacado en agua (firme o prensado) tiene múltiples aplicaciones, tales como a la parrilla, para sofreír, saltear, escalfar, al vapor, frito en abundante aceite y para asar al horno. Este tipo de tofu actúa como una esponja absorbiendo sabores debido a su grado de firmeza. Por otra parte, el tofu sedoso es adecuado en preparaciones donde se maneje con cuidado, para licuar o hacer puré; también puede servirse en cubitos y sobre sopas justo antes de servirlos, desmoronado en ensaladas y en puré, como reemplazo de crema y huevo (ASA y USB, 2009).

El tofu es un alimento barato y muy nutritivo consumido en todos los países del este asiático. Contiene un 50% de proteína y un 27% de grasa (en peso seco), el resto son carbohidratos y minerales. Este producto, junto con la bebida de soya, es el derivado de soya sin fermentar más popular en E.U, Europa, Canadá y Australia (Sanz *et al.*, 2007b).

#### Productos de tipo lácteo fermentados

Los alimentos fermentados de soya, que tienen un uso como análogos de productos lácteos, se elaboran agregando organismos vivos a la bebida de soya o al tofu. Dependiendo del producto, se pueden agregar levaduras, bacterias o mohos. El proceso de inocular estos productos de soya con organismos vivos tiene como resultado la creación de capas complejas de sabor, debido a la síntesis o incremento de algunos componentes.

El “queso de soya” corresponde a un producto de este tipo, se elabora a partir de la bebida de soya por medio de un proceso similar al de la elaboración del queso auténtico y actualmente existe una creciente variedad de sus presentaciones. Su elaboración consiste en coagular la bebida de soya generalmente con la adición de bacterias y en algunas ocasiones también se añade ácido; posteriormente, la cuajada resultante se sala, se comprime y en ocasiones, se añeja. Al igual que la bebida de soya, este producto no contiene lactosa ni la cantidad de grasa saturada que presentan los quesos elaborados con leche.

Algunos productores de queso de soya, en E.U y Francia, han empezado a elaborar quesos que provienen de la combinación de las bebidas de soya con proteína láctea (caseína); los quesos resultantes presentan un excelente sabor y mejores características funcionales para la cocción. Recientemente, los procesadores de alimentos están usando más queso de soya en sus formulaciones de productos para pizzas, platos fuertes congelados y sándwiches, así como para otros productos refrigerados, congelados y estables en el anaquel.

Otro producto de este tipo que aún es considerado nuevo en el mercado, como el queso de soya, es el “yogurt de soya”. Este alimento se prepara igual que su contraparte láctea; la bebida de soya se inocula con las mismas cepas de bacterias que producen el yogurt de leche de vaca: *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. El yogurt de soya resultante tiene excelente sabor y textura y puede usarse igual que el yogurt de leche de vaca. De igual manera, debido a que es de origen vegetal, no contiene lactosa o niveles altos de grasa saturada. Una de sus aplicaciones, junto con la bebida de soya y el tofu, es la elaboración de helados suaves y otras bebidas. Aunque la denominación de “yogurt” no es del todo correcta porque no existe propiamente una fermentación bacteriana en leche, para fines prácticos de este trabajo, será referido como tal durante el desarrollo de esta investigación (ASA y USB, 2009; Torres, 2012).

### **1.3 Producción a nivel mundial y nacional**

#### **Producción mundial**

El frijol de soya se ha caracterizado por ser la leguminosa que más se cultiva en el mundo, desde el punto de vista de la superficie destinada al cultivo, así como por el volumen de producción obtenido. En la Figura 1.3 se representa el porcentaje promedio de producción de soya por continente, durante el periodo 2009-2017, esto de acuerdo con datos estadísticos de la FAO. En el gráfico se observa que América es el continente más destacado; debido a esto, los países exportadores de este producto son, en su mayoría, pertenecientes a dicho continente.

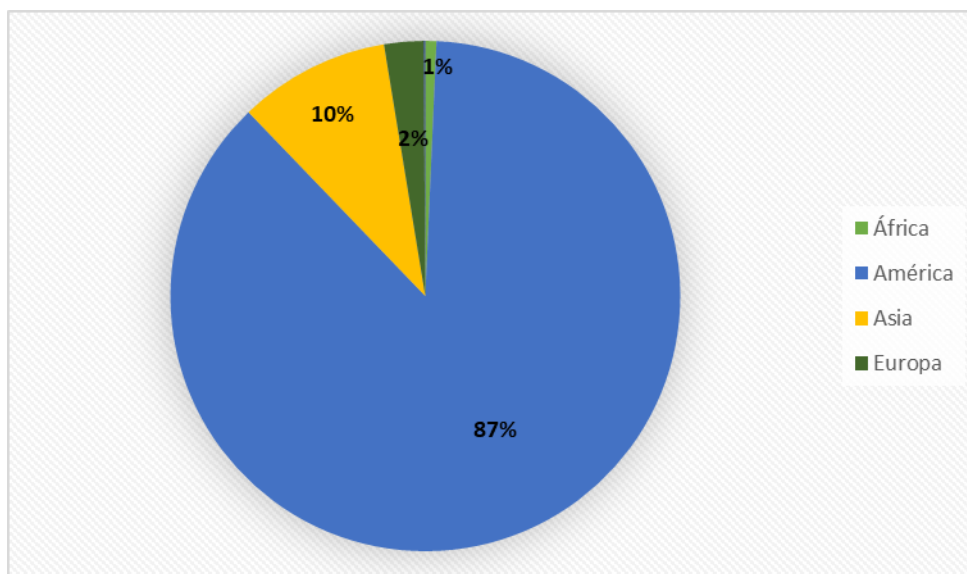


Figura 1.3. Producción de soya por continente (2009-2017)

Fuente: Estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2017

Con base en la Figura 1.3, el continente americano tuvo una producción aproximada de 250 millones de toneladas en dicho periodo, seguido de Asia con 28 millones de toneladas, luego Europa con 7 millones de toneladas, África con 2 millones de toneladas y finalmente, Oceanía con 69 mil toneladas.

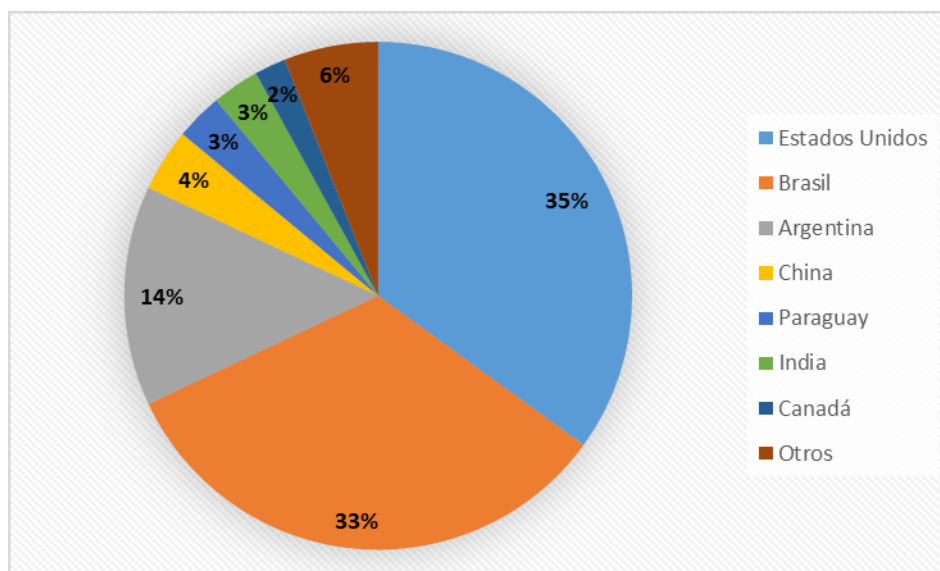


Figura 1.4. Países más sobresalientes en la producción de soya

Fuente: Estadísticas de la Asociación Americana de la Soya (ASA), 2017

Pese a la importancia de la soya en el mercado mundial, ya que de ésta se obtiene la pasta de soya (principal materia prima en la fabricación de alimentos balanceados), la producción es encabezada por 3 países que producen aproximadamente arriba del 80%. Estos países son E.U, Brasil y Argentina, como se observa en la Figura 1.4 (ASA, 2017).

De acuerdo con la FAO, en el periodo del 2009-2017, se reportó que en promedio la producción de soya en E.U fue de aproximadamente 99 millones de toneladas, seguida de Brasil con una producción de 83 millones de toneladas y como tercer lugar, Argentina con 50 millones de toneladas. El resto de los países que se muestran en la Figura 1.4, reportan valores por debajo de los 15 millones de toneladas.

### Producción nacional

La primera estadística de producción de la soya en México data de 1958. Su cultivo fue iniciado en el noroeste del país en el año de 1960 en los estados de Sonora y Sinaloa, posteriormente en Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Jalisco, Tamaulipas y en otras regiones del sureste mexicano como Yucatán, Campeche y Chiapas. La mayor parte de las áreas destinadas a la siembra de la soya se estableció que fuera bajo condiciones de riego, limitando su extensión (ASA, 2004).

En el año de 1990 la producción de soya en México fue de casi 1 millón de toneladas, con una posterior caída en los siguientes años, produciéndose en 1996 alrededor de 150 mil toneladas y para el año 2004, poco más de 110 mil toneladas. Esta disminución en la producción doméstica de soya se observó desde la implementación del Tratado de Libre Comercio con América del Norte (TLCAN); para compensar esta falta de producción, las industrias se han visto en la necesidad de incrementar la importación de granos de soya y sus derivados, principalmente de E.U (90%) y Paraguay (7%). Actualmente, México es el tercer importador a nivel mundial y sus importaciones representan el 3% de la soya que se comercializa (ASA, 2004; SAGARPA, 2017).

Entre 2003 y 2016 se observó un incremento en la superficie sembrada que pasó de 71 mil a 280 mil hectáreas, lo que arrojó una producción de 509 mil toneladas en 2016 (SAGARPA, 2017). Con respecto a esta mejora, la SAGARPA y el SIAP hacen mención en su Atlas Agroalimentario 2012-2018 que, en el lapso del 2012-2017, la producción de soya registró un incremento promedio anual del 12%, principalmente porque se destinaron mayores áreas para la siembra en Tamaulipas, Sinaloa, San Luis Potosí y Campeche (Ver Figura 1.5). Actualmente, son estos 4 estados los que encabezan el top 10 de las entidades mexicanas con mayor volumen de producción.

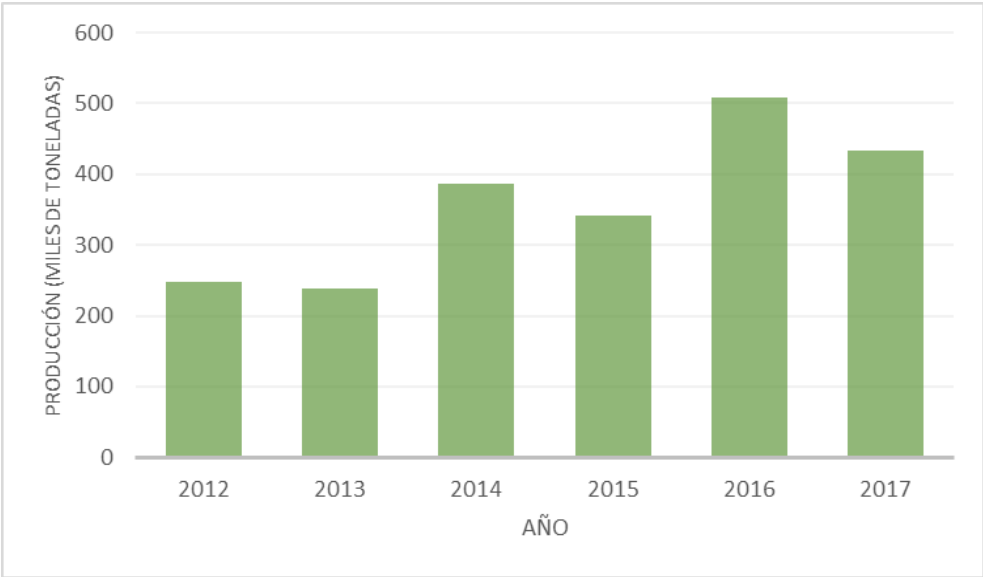


Figura 1.5. Volumen de producción nacional de soya (2012-2017)

Fuente: Atlas Agroalimentario 2012-2018 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2018

### 1.4 Consumo de soya en México

Generalmente, la producción de soya en México se destina al proceso industrial, obteniendo el aceite y la harina. De acuerdo a datos proporcionados por la ASA, durante el año 2004 el principal mercado de consumo de aceite de soya en el país, fue el abastecimiento de la industria, la cual lo utiliza normalmente para la panificación, la elaboración de margarinas, mantecas y como sustitutos de la grasa del cacao, mientras que otra parte fue destinada al uso doméstico.

Actualmente se satisface 10% de los requerimientos nacionales con producción interna, lo que establece una dependencia de importaciones, como se mencionó anteriormente. Los productos a los que normalmente se hace referencia como parte de las necesidades nacionales son el aceite, la pasta y la semilla de soya. Sin embargo, en 2016, el 98% de la soya se destinó principalmente a la fabricación industrial de proteína animal (SAGARPA, 2017).

En la Planeación Agrícola Nacional para el periodo 2017-2030, realizada por la SAGARPA, se plantearon estimaciones para el año 2030, con respecto a la relación producción-consumo nacional de la soya (Ver Figura 1.6). De tal manera que para ese año se estima un incremento del consumo de 4.8 a 5.6 millones de toneladas y que la producción se incremente de 500 mil a 600 mil toneladas, lo cual representa un crecimiento acumulado de 17 y 26%, respectivamente. Buscando cumplir con esto y tomando como prioridad el impulso de la producción nacional, la SAGARPA propone tener alternativas de abastecimiento; esto es, diversificar las importaciones para asegurar fuentes alternativas de proveeduría a la de E.U, Paraguay y Brasil.

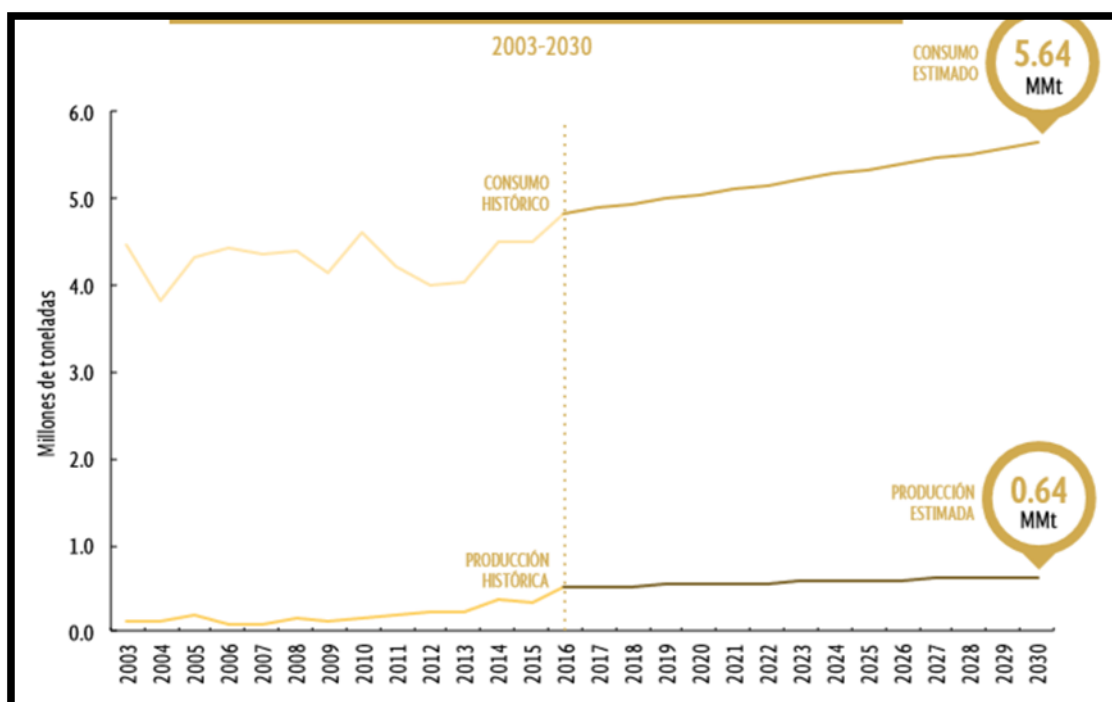


Figura 1.6. Relación de la producción-consumo nacional de la soya (2003-2030)

Fuente: SAGARPA, 2017

## 2. El yogurt de soya: un producto fermentado en la industria de alimentos

### 2.1 Generalidades del yogurt

#### 2.1.1 Historia

Su origen debe situarse en el Oriente Medio o la India, en general se puede decir que fue en Asia, donde los antiguos turcos vivieron como nómadas. El primer nombre turco apareció en el siglo VIII como *Yogurut*, el cual para el siglo XI cambió al nombre actual. En el siglo XVIII, el médico alemán Engelbert Kaempfer en sus viajes al Oriente describió el palacio del Emperador de Persia y un cuarto especial encontrado en éste, designado como “Yogurt Choneh”, donde el yogurt se utilizaba para producir alimentos o para alimentación animal. Otras fuentes hacen referencia al “leben” (especie de queso de yogurt elaborado con leche de oveja, de vaca y ocasionalmente de cabra) de los antiguos árabes; sin embargo, hay otras áreas que reclaman el origen del yogurt, como es el caso de la región de los Balcanes en el sureste de Europa, donde los habitantes de Tracia (antigua Bulgaria) solían preparar leche ácida llamada “prokish”, más tarde llamada yogurt. Como las zonas de la India también reclaman el origen del yogurt, sus inicios verdaderos permanecen en disputa.

Originalmente el yogurt fue hecho en casa con leche de oveja o leche de búfala y parcialmente con leche de cabra y leche de vaca en contenedores de madera u ollas de barro. Se cree que los pastores nómadas, al almacenar la leche siempre en los mismos recipientes, fueron seleccionando una microbiota que fermentaba la leche y producía un alimento de sabor agradable; aunque también es posible que la propagación se haya llevado a cabo mediante el uso de una pequeña cantidad de leche previamente coagulada para sembrar el siguiente lote de leche hervida. A través de este proceso de elaboración casero, se vió como ventaja el alto grado de acidez conseguido, pues éste no permitía el desarrollo de bacterias patógenas que alteraran las características del producto.

El yogurt fue usado principalmente para consumo directo, pero también para cocinar y hornear. Los médicos antiguos del Oriente Medio prescribían el yogurt como una cura para las enfermedades gastrointestinales. En la primera mitad del siglo XX, el microbiólogo ruso Iliá Metchnikoff en su teoría de la longevidad

observó los efectos benéficos del yogurt en la dieta humana. Su teoría influyó considerablemente en la popularidad del yogurt y estimuló su consumo en varios países.

Hasta hoy en día el yogurt es producido en varios países como un alimento popular. El crecimiento considerable en el consumo de yogurt a través de los años ha sido debido a sus propiedades organolépticas agradables, la disponibilidad de una gran variedad de productos saborizados, y a su imagen pública como un alimento saludable (Kurmann *et al.*, 1992; Cambero *et al.*, 1998).

### 2.1.2 Definición

En la NOM-181-SCFI-2010 se cuenta con la siguiente denominación comercial: “Yogurt es el producto obtenido de la fermentación de leche, estandarizada o no, por medio de la acción de microorganismos *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, y teniendo como resultado la reducción del pH”. De acuerdo con dicha norma, el yogurt podrá clasificarse por sus componentes en simple o natural y en saborizado o con fruta, independientemente de su presentación.

Cambero *et al.* (1998) indican que este producto puede clasificarse con base en diversos criterios:

- Contenido de grasa (entero, semi o descremado).
- Métodos de producción del gel (sin batir, batido, líquido).
- Aroma y sabor (natural, con frutas, aromatizado).
- Tratamientos post-incubación (tratados térmicamente, congelados, deshidratados o concentrados).



## 2.2 Elaboración del yogurt de soya

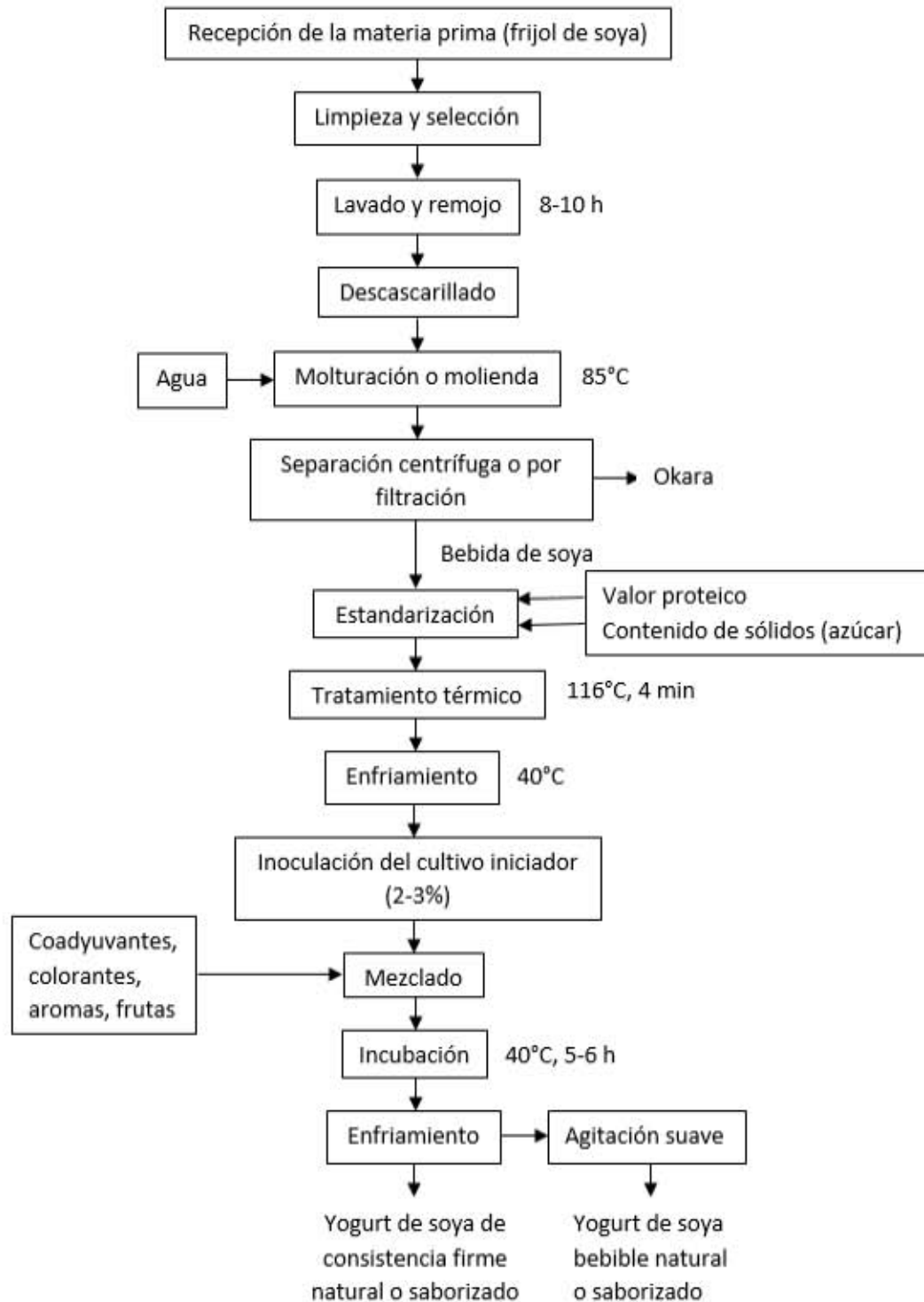


Figura 2.1. Proceso de fabricación del yogurt de soya a partir de bebida de soya

Fuentes: Tamime y Robinson, 1991; Sanz *et al.*, 2007b

El principal inconveniente de los alimentos a base de soya es su sabor a frijol y la flatulencia que ocasionan, es decir, la producción de dióxido de carbono, hidrógeno y metano por la microbiota intestinal como resultado de la degradación y/o metabolismo de los oligosacáridos presentes en la semilla de soya. Afortunadamente, este tipo de problemas pueden ser solventados por diversas técnicas de procesado y/o fermentación; uno de los productos alimenticios fermentados que puede ser elaborado a partir de la bebida de soya, como anteriormente se mencionó, es el yogurt de soya.

Normalmente, el proceso para fabricar yogurt de soya puede partir de uno de los siguientes productos: la bebida o la harina de soya; en la Figura 2.1 se esquematiza la elaboración cuando el producto de partida es la bebida de soya. Este proceso ya ha sido evaluado y de su estudio se desprenden las siguientes conclusiones (Tamime y Robinson, 1991):

- Se puede obtener un producto de calidad aceptable similar al yogurt a partir de bebida de soya fermentada por *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*.
- El producto fermentado exhibe su máxima calidad para una concentración de ácido láctico de 1,15%, que permite la formación de un coágulo homogéneo y firme, sin separación del suero.
- El sabor de la bebida de soya fermentada depende directamente de las concentraciones de n-pentanal y n-hexanal; *S. thermophilus* es el responsable de la formación del primero, mientras que el segundo se encuentra normalmente presente en la bebida de soya.

Aunque son muchos y variados los procesos seguidos para la elaboración de bebida de soya, en general, se puede decir que existen 2 métodos distintos: el tradicional y el continuo. En el caso del primero, suelen omitirse pasos que implican la inactivación o eliminación de compuestos que le dan sabores poco agradables al producto, pero que son bien aceptados en países asiáticos debido a la alimentación que llevan estas culturas. Por el contrario, el segundo método sí considera tales pasos para obtener un producto agradable en sus características organolépticas, por lo tanto, este es el proceso a seguir en los países occidentales

como México. Sin embargo, cuando se elabora un producto fermentado a partir de la bebida de soya, es recomendable optar por el método tradicional, esto con el fin de conservar lo más que se pueda aquellos factores considerados como antinutricionales para que sean aprovechados por los microorganismos fermentadores (bacterias ácido-lácticas (BAL)).

La limpieza y selección del frijol de soya se requieren para eliminar todas las semillas defectuosas (por deformidad, por presentar colores anormales o manchas extrañas o porque han perdido la piel o algún trozo de los cotiledones a consecuencia de una mala manipulación, ataques de insectos o por cualquier otra causa). Durante la selección se eliminan los restos extraños que las acompañan, como pajas, tierra, restos metálicos de las máquinas cosechadoras, etc.

Posteriormente, se realiza un lavado a fondo para liberar las semillas de tierra, polvo, restos de insectos y cualquier otro tipo de suciedad que pudiera contaminarlas. Eliminada el agua de lavado, se remojan durante un tiempo de 8-10 h, procurando renovarla con frecuencia; al principio cada 10-15 min y después distanciando más los cambios. Tanto el lavado como el remojo se realizan a temperatura ambiente y con agua potable.

El descascarillado consiste en eliminar la piel o la cáscara que protege a los cotiledones. Hoy en día, las plantas modernas automáticas invierten 1-2 min para realizar este paso, pues hacen pasar las semillas por 2 o 3 parejas de rodillos dotados de superficies con asperezas; los de cada par giran en sentidos opuestos y la separación existente entre ellos se puede estrechar o ensanchar a voluntad, esto permite ejercer en las semillas una abrasión suficiente para desprender sus pieles o cascarillas de los cotiledones.

La molturación o la molienda busca obtener una suspensión acuosa (1 parte de cotiledones de soya y 2-3 partes de agua). Conviene mantener la temperatura a 85°C, porque si ésta desciende se favorece la aparición del “sabor a leguminosa cruda” en la bebida de soya. La prolongación indebida del periodo de precalentamiento durante la molturación también favorece la presencia de este sabor. Terminada la molienda, se observa una especie de suspensión, de mayor a menor consistencia, dependiendo del agua que se añadió a los cotiledones al

comienzo de este proceso y sus variantes (tiempo invertido, temperatura, dureza del agua, etc.). Como la bebida de soya es un producto líquido, los restos que lleve en suspensión y el sedimento sólido deberán separarse por centrifugación o filtración. Con ambos procedimientos se obtienen 2 porciones muy distintas: una líquida (bebida de soya) y otra sólida, denominada “okara”, que se usa como pienso del ganado.

La estandarización se refiere al ajuste de la composición química (en especial, el valor proteico); sin embargo, cuando la bebida de soya va a ser utilizada para elaborar yogurt a partir de ella, es posible que sea necesario realizar ajustes en el contenido de sólidos, específicamente el contenido de azúcar, por lo que pueden añadirse azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa. De esta manera, la posible pérdida de estos componentes durante pasos anteriores, se puede compensar, ya que son éstos el sustrato del cultivo iniciador.

La importancia de realizar un tratamiento térmico radica en que éste es el principal responsable de la destrucción del factor antitripsina, un agente antinutritivo cuya presencia determina la inhibición de la tripsina y, por tanto, la posible aparición de desórdenes digestivos. Además de esto, con la realización de este paso también se asegura la desaparición del sabor a leguminosa cruda, ya debilitado por la molienda. Finalmente, además de proporcionar un efecto estabilizante efectivo, destruye la lipooxigenasa y elimina algunas sustancias volátiles, impidiendo así efectos perjudiciales en los ácidos grasos poliinsaturados; por consecuencia, evita la aparición de olores a rancio, así como alteraciones en el sabor y aroma (Sanz *et al.*, 2007b).

Los cultivos ocupados para realizar la fermentación son los mismos que para la fabricación del yogurt de origen animal (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus*) y la cantidad que es añadida a la bebida de soya tampoco varía del proceso con leche (2-3%). Debido a que la lactosa no está presente en la bebida de soya, es importante la presencia de otros azúcares que también pueden ser fermentados por ambos cultivos, como son la glucosa, fructosa y sacarosa. Por ello, se considera necesario adicionar a la bebida de soya tales azúcares para poder realizar la inoculación del cultivo iniciador.

De manera similar a la preparación del yogurt elaborado a partir de leche, si se desea, también pueden adicionarse otros ingredientes como estabilizantes, frutas, saborizantes y aromas. En dado caso que fuera así, es recomendable realizarlo una vez que ya ha sido inoculada la bebida de soya con los cultivos iniciadores para que haya una integración de todos los elementos durante el proceso de fermentación; los pasos posteriores dependen del producto final deseado, ya sea un yogurt de soya de consistencia firme o bebible.

La incubación se da a 40°C por un periodo de aproximadamente 5-6 h. Durante esta última etapa, los cultivos de *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. thermophilus* se multiplican y producen ácido láctico y otros compuestos. La relación sinérgica que existe entre estos 2 microorganismos incrementa los niveles de ácido láctico y acetaldehídos producidos en el yogurt, en comparación con las bebidas de soya fermentadas con cepas sencillas. Por un lado, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* libera Val, His y glicina (Gly, G), las cuales estimulan el crecimiento de *S. thermophilus*; en tanto que *S. thermophilus* produce formiato, que es un compuesto estimulador para *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. También se ha observado que *S. thermophilus* tiene un mejor desarrollo con niveles altos de pH y, en un periodo de 2 horas y media reduce rápidamente el pH de 7.1 (pH aproximado de la bebida de soya) a aproximadamente 5,0, en tanto que la acidez total titulable sufre un drástico incremento de 0,11 a 0,44. Mientras tanto, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* se desarrolla mejor con un pH abajo de 5,0 y disminuye el pH a un índice menor de aproximadamente 4,2-4,3 en un periodo de 3 horas y media, conllevando a un incremento de la acidez total titulable hasta un valor de 0,62, en el cual se inhibe la fermentación. Es importante evitar la formación excesiva de acidez para obtener un producto con una consistencia firme, esto se logra mediante el rápido e inmediato enfriamiento del producto, el cual ya terminado deberá mantenerse en refrigeración hasta su consumo (Spreer, 1991; ASA, 1992).

### 3. El yogurt de soya como alimento funcional

#### 3.1 Alimentos funcionales

##### 3.1.1 Historia

Hipócrates, un médico de la Antigua Grecia que fue conocido como el “Padre de la Medicina”, alguna vez mencionó una frase muy característica de él: “Que tu alimento sea tu medicina y que tu medicina sea tu alimento”. Es decir, desde entonces él ya reconocía que el concepto de alimento va más allá de las necesidades nutricionales, dando paso a un concepto primitivo de “Alimento Funcional” (AF); sin embargo, es importante recalcar que los AF no son medicamentos (Howlett, 2008).

Concretamente, la idea de los AF fue desarrollada en Japón durante la década de 1980 como una medida para reducir el alto costo de los seguros de salud que aumentaban por la necesidad de proveer cobertura a una población cada vez mayor en edad, gracias a los avances en cuidado médico y una buena nutrición. El término se refería a alimentos nutritivos que, además de brindar lo elemental, son procesados para que contengan ingredientes que ayudan a ciertas funciones específicas del organismo.

El primer término usado para este tipo de alimentos en los Estados Unidos fue el de “alimentos diseñados”, utilizado en 1989 por el Dr. Herbert Pierson, Director del Programa de Alimentos Diseñados del Instituto Nacional del Cáncer, para describir aquellos alimentos que contienen naturalmente o que son enriquecidos con componentes químicos biológicamente activos, pero no nutritivos, provenientes de plantas (fitoquímicos) y efectivos en la reducción de los riesgos al cáncer (Álvarez y Bague, 2011a).

En 1991, el Ministerio Japonés de Educación, Ciencia y Cultura realizó un proyecto en materia de investigación y desarrollo de las funcionalidades de los alimentos, dando a conocer el concepto de “Alimentos para Uso Específico en la Salud” (Foods for Specified Health Use (FOSHU)), a partir de lo cual los diversos países han ido incorporando el término de AF en sus legislaciones y normativas de alimentos (Arai *et al.*, 2002; Howlett, 2008). Estos alimentos son elegibles para

llevar un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar; en 1998, más de 100 productos ya contaban con licencia FOSHU en Japón.

La generación de los “baby boomers” en los Estados Unidos (aquellos nacidos inmediatamente después de la Segunda Guerra Mundial, en el periodo entre 1945 y 1950) con su interés en la salud hicieron de los AF la más importante industria en ese país, estimando un mercado de 29 mil millones de dólares en 1998.

Los factores que han contribuido a la presente “revolución dietaria” y al interés en los AF, pueden ser resumidos en los siguientes puntos:

- La evidencia abundante acerca del papel vital de una alimentación equilibrada en el mantenimiento de la salud.
- El papel de la dieta en la ocurrencia de 10 de las mayores causas de muerte incluyendo enfermedades del corazón, cáncer, derrame cerebral, diabetes, aterosclerosis y enfermedades hepáticas.

Dichos factores han llevado a tener un gran interés en el papel que tienen los alimentos fisiológicamente funcionales en la prevención de enfermedades y en la promoción de la salud, partiendo del hecho de que la evidencia científica enfatiza lo siguiente (Álvarez y Bague, 2011a):

1. Existe una fuerte relación entre los alimentos que se consumen y la salud humana.
2. Las nuevas tecnologías (biotecnología e ingeniería genética) han creado posibilidades sin límites en las áreas de los descubrimientos científicos, la creación de nuevos productos y la producción en gran volumen.
3. Los desarrollos logrados han resultado en un aumento potencial del número de productos con beneficios médicos y para la salud.

### 3.1.2 Definición

No existe un acuerdo para definir en forma precisa lo que son los AF. Muchos consideran que se trata de un concepto aún en desarrollo y que bien podrían considerarse como productos intermedios entre los tradicionales y la medicina. Una de sus posibles definiciones es: “cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes

adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona” (Álvarez y Bague, 2011a). No obstante, la mayoría de las definiciones existentes coinciden en:

1. Son alimentos que están destinados a ser consumidos como parte de la dieta diaria.
2. Contienen un compuesto bioactivo que es el responsable de la acción biológica del alimento.
3. Su apariencia es similar a los alimentos convencionales.

Considerando lo anterior, se genera la siguiente definición para un AF: “Es un alimento que es consumido como parte de la dieta y que contiene componentes biológicamente activos que ofrecen el potencial de mejora de la salud o la reducción del riesgo de una enfermedad” (Lajolo, 2003; FAO, 2007).

Esta definición coincide en esencia con la primera descripción de estos alimentos, la cual fue asignada en Japón en 1991 mediante el proyecto desarrollado con el apoyo de investigadores interesados en la Nutrición, Farmacología, Psicología y la ciencia médica. Este trabajo en equipo fue el primero en definir a los AF como alimentos que tienen un tercer papel, según las funciones establecidas para un alimento (Howlett, 2008):

1. Nutritiva: esencial para la supervivencia de un individuo.
2. Sensorial: dar satisfacción a través de los sentidos (sabor y textura agradables).
3. Fisiológica: mantenimiento y regulación de las funciones del organismo.

De acuerdo con los japoneses, los AF pueden agruparse con base en 3 criterios (Álvarez y Bague, 2011a):

1. Alimentos a base de ingredientes naturales.
2. Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria.
3. Alimentos que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano, incluyendo:
  - a. Mejora de los mecanismos de defensa biológica.
  - b. Prevención o tratamiento de alguna enfermedad específica.



- c. Control de las condiciones físicas y mentales.
- d. Retardo en el proceso de envejecimiento.

### 3.1.3 Mercadotecnia y legislación

El diseño de un AF debe implicar la presencia de determinados componentes (ingredientes funcionales) que ejercen un impacto positivo sobre las funciones del organismo humano; éstos pueden encontrarse en el AF ya sea porque fueron añadidos, se incrementó su proporción o se reemplazó un componente que puede ser poco saludable. Sin embargo, es necesario conocer los mecanismos de acción, las dosis adecuadas y además comprobar la objetividad de su eficacia para validar definitivamente la utilidad de su recomendación (Cortés *et al.*, 2005; Lutz, 2008).

El uso de diversos ingredientes funcionales para enriquecer o mejorar las propiedades de los alimentos es actualmente una práctica habitual y en progresivo desarrollo. Por esto, se encuentran en el mercado numerosos productos alimentarios, a veces bajo denominaciones muy diversas, que suelen ser vendidos como AF (Menéndez, 2013). Los 3 mercados dominantes que contribuyen con el 90% del total de ventas son: Europa, América del Norte y Asia-Pacífico, mientras que las regiones de Latinoamérica y del Oriente Medio con África representan una pequeña parte de este mercado (Ver Figura 3.1).

Sin embargo, en los últimos años Latinoamérica es la región en la que más ha crecido este mercado, logrando incrementarlo en más de un 80% (Ver Figura 3.2) (Morán, 2009). Cabe mencionar que no sólo ha crecido la presencia latinoamericana en la producción y venta de AF, sino que también ha comenzado a emerger como uno de los principales exportadores de ingredientes funcionales, específicamente países como Brasil y Perú (FAO, 2007). No obstante, en México existe un mercado importante de AF; de acuerdo con un estudio realizado en el 2009 por Nielsen-México, se mostró que el mercado de estos productos entre 2008-2009 representaba un 3.6% del gasto de los consumidores.

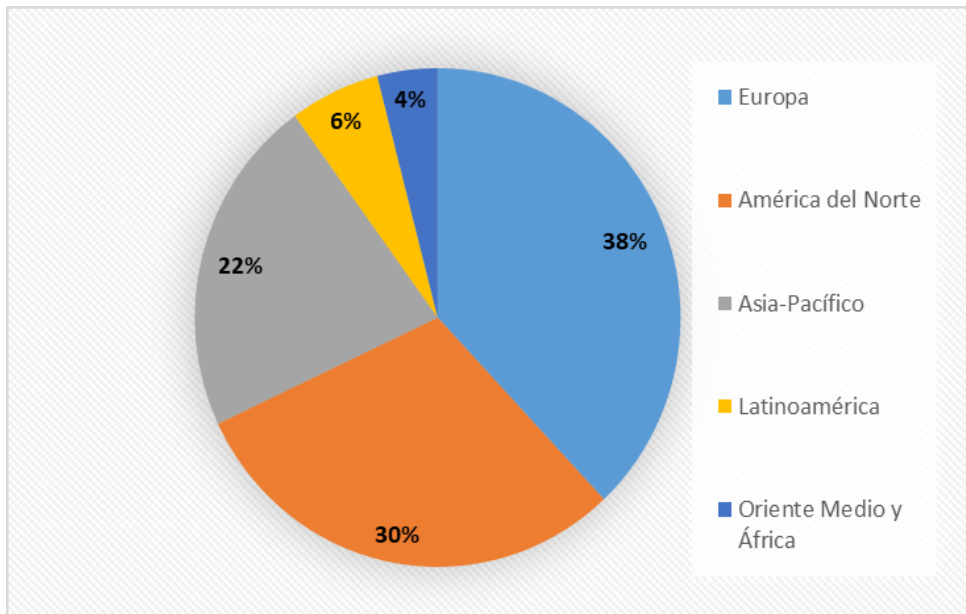


Figura 3.1. Ventas de AF por región mundial

Fuente: Morán, 2009

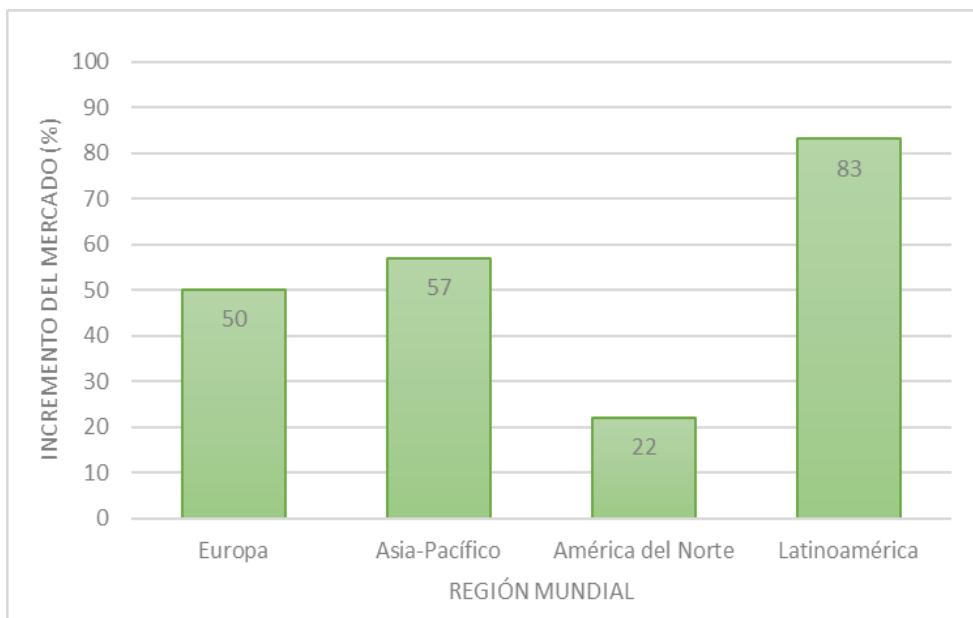


Figura 3.2. Incremento del mercado de AF en diferentes regiones mundiales

Fuente: Morán, 2009

Para la comercialización de un AF, se deben resaltar las características, atributos y beneficios que permitan la identificación de éste en un determinado mercado; el hecho de contener un compuesto bioactivo que es el responsable de la acción

biológica del alimento y por el que el producto puede ser considerado como un AF, debe ser comunicado al consumidor final a través de una etiqueta (Howlett, 2008; Rivera, 2009). La declaración de “Propiedad Funcional” o de “Propiedad sobre la Salud” debe estar fundamentada en trabajo científico y aprobada por el marco regulatorio del país en el que se haya desarrollado el AF. De esta manera se podrá tener seguridad en los beneficios y riesgos, así como conocer exactamente el alcance real de los mismos y cómo éstos serán recibidos por el consumidor (Howlett, 2008).

A nivel mundial, a Japón se le atribuye el sistema regulatorio más desarrollado, con la implementación del sistema FOSHU (Blandon *et al.*, 2007). Le siguen los esfuerzos de la Unión Europea, donde el 20 de diciembre de 2006 se realizó la publicación del Reglamento (CE) no. 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, documento que hace referencia a las declaraciones nutricionales y las propiedades saludables que se pueden destacar en el etiquetado de los AF (Menéndez, 2013). Los avances más importantes hasta ahora han sido las iniciativas FUFOSSE (Comisión de Acción Concertada en Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa) y PASSCLAIM (Proceso para la Evaluación de Apoyo Científico a las Declaraciones de los Alimentos) que establecen directrices para la regulación de la “función mejorada” y de “reducción de riesgo” sobre la base de apoyo científico. Además, en 2007 entraron en vigor las regulaciones sobre las alegaciones nutricionales y saludables en los alimentos.

En América del Norte los referentes son Canadá y Estados Unidos, mientras que en Latinoamérica, Brasil y Chile parecen tener los sistemas de regulación más desarrollados (Blandon *et al.*, 2007). En lo que respecta a México, aunque el término de AF se utiliza con cierta familiaridad, tanto por industrias como por consumidores, en la legislación mexicana no están definidos ni regulados; hasta ahora, la NOM-086-SSA1-1994 puede considerarse como la referencia más cercana ya que la definición de los “alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición” tiene rasgos similares a la definición de un AF, sin embargo, esta denominación no hace mención del potencial de mejora de la salud o la reducción del riesgo de una enfermedad; por lo tanto, dicha norma no contempla el uso y mucho menos regula el empleo de declaraciones funcionales.

En general, la discusión sobre la regulación de los AF se centra en lograr dictaminar las evidencias científicas necesarias para poder establecer una declaración de funcionalidad. Las declaraciones son consideradas un medio eficaz a través del cual los beneficios de los AF pueden ser llevados a la atención de los consumidores. De hecho, es ampliamente sostenido que el regular estas declaraciones puede aportar beneficios tanto a la industria como a los consumidores (Blandon *et al.*, 2007).

### **3.2 Beneficios en la salud por el consumo de yogurt de soya**

Hablar del yogurt de soya es remitirse necesariamente, desde el punto de vista nutricional y funcional, a sus 2 términos: yogurt y soya, ya que cada uno de ellos tiene un mensaje que permite comprender el verdadero valor de este alimento y hacer un uso consciente de sus beneficios.

Empezando con el yogurt, éste es considerado un producto de fácil digestión y de alto valor nutritivo debido a su proceso de fermentación, etapa donde las grasas y proteínas se transforman en sustancias más digeribles. Dentro de sus propiedades tiene la de restablecer las funciones hepáticas y principalmente, estabilizar la microbiota intestinal por la presencia de microorganismos vivos inoocuos, que además potencian el sistema inmune contra infecciones y otras enfermedades. Por ello, es considerado un alimento probiótico y, por lo tanto, un AF. Se caracteriza por ser rico en proteínas de alto valor biológico, calcio, vitaminas liposolubles (como la A y la D) y del complejo B (especialmente B2); su contenido en grasas y calorías está en dependencia del tipo de yogurt que se consuma.

Con respecto a la soya, su composición hace de ella un alimento con alto valor nutricional; fundamentalmente, esto es debido a su contenido en grasas de tipo insaturadas y a que sus proteínas son de alta calidad al poseer todos los aminoácidos esenciales para el organismo (Álvarez y Bague, 2011b). También es de gran importancia mencionar que esta leguminosa no contiene lactosa, pero sí cuenta con la presencia de componentes minoritarios, entre los que destacan minerales, vitaminas, inhibidores de proteasas, isoflavonas, saponinas, fitatos, etc., los cuales son considerados compuestos biológicamente activos (Liu, 1997). Mediante numerosos estudios se han demostrado los beneficios de la soya,

siendo algunos de ellos constituir una importante fuente de proteínas en la alimentación; prevenir trastornos cardiovasculares; aliviar los síntomas de la menopausia; prevenir la osteoporosis en la mujer y reducir la tasa de glucosa sanguínea (Fernández, 2012).

Tomando en cuenta las características de ambos términos y considerando que hay un proceso de por medio para elaborar el yogurt de soya, no es apropiado dar por hecho que la composición de esta semilla se mantiene intacta, lo que implica que sólo algunos de los componentes bioactivos seguirán presentes en el producto final y podrán ejercer su función. En general, un producto de esta naturaleza puede considerarse un alimento probiótico rico en proteínas (incluyendo fragmentos de éstas) y fitoestrógenos (en especial isoflavonas), con presencia de calcio y con un buen perfil de ácidos grasos insaturados. Por lo tanto, cuando se habla de un producto como el yogurt de soya, se termina disponiendo de un alimento rico y extraordinariamente sano (Álvarez y Bague, 2011b). A continuación, se explican a detalle sus principales beneficios.

### 3.2.1 Propiedades funcionales del yogurt: papel de los probióticos

El yogurt se cataloga como un producto de alta digestibilidad, que aumenta el coeficiente de absorción de numerosos componentes; también cabe destacar su participación en la disminución de los problemas alérgicos. Las propiedades bacteriostáticas del yogurt contribuyen a la resistencia a las infecciones. En efecto, este producto contiene microorganismos activos que forman parte de la microbiota intestinal indispensable, entre los cuales se encuentran BAL, grupo que también engloba a las bifidobacterias. Las BAL son una de las poblaciones microbianas dominantes desde las primeras semanas de vida; además, desde tiempo inmemorial forman parte de la dieta del hombre a través de diversos productos fermentados. En este contexto microbiológico, los probióticos son definidos como alimentos o complementos alimenticios con microorganismos vivos que contribuyen a mantener el equilibrio microbiano del tracto gastrointestinal (TGI). De esta forma, el producto tradicional más utilizado y extendido como probiótico es sin duda el yogurt; esto significa que tiene las condiciones necesarias para ser considerado como tal y que contiene microorganismos vivos que, al ser agregados

como un complemento en la dieta, afectan en forma beneficiosa al desarrollo de la microbiota intestinal.

Para hablar de gran parte de los efectos de los probióticos en la salud, hay que mencionar las funciones principales de la microbiota intestinal en el TGI. Mediante el estudio de animales modelo mantenidos en condiciones gnotobióticas (libres de gérmenes), se ha evidenciado que la microbiota intestinal participa en numerosos procesos fisiológicos, bioquímicos e inmunológicos del huésped, incluyendo el mantenimiento del equilibrio microbiano necesario para la salud. Estas funciones pueden agruparse en 3 categorías diferentes: metabólicas, tróficas y protectoras.

### Funciones metabólicas

El ecosistema microbiano del aparato digestivo actúa sobre numerosas propiedades fisiológicas, sobre todo, en lo que se refiere al proceso de absorción a nivel intestinal. La microbiota interviene aumentando el volumen de los compartimientos digestivos, la superficie intestinal de absorción, las dimensiones de las microvellosidades y su renovación celular, el tránsito digestivo y la motilidad intestinal. Una de las funciones más importantes de la microbiota intestinal es la digestión de los residuos alimentarios no aprovechados en el tracto superior y de los compuestos endógenos secretados por los epitelios. A través de este proceso, se obtienen energía y nutrientes tanto para el hospedador como para los microorganismos intestinales.

La fermentación de los carbohidratos no digeribles (almidones no digeribles, pectinas, gomas, celulosas, hemicelulosas y moco endógeno) es, sin duda, la mayor fuente de energía en el colon proximal. Las poblaciones de bacterias lácticas son unas de las más eficaces en el proceso fermentativo, los productos metabólicos más importantes de este proceso son los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (acetato, butirato y propionato), con una gran importancia en la fisiología del TGI; las concentraciones de éstos son necesariamente distintas en cada individuo. El epitelio del colon consume por completo el butirato formado, siendo la principal fuente de energía para los colonocitos; este AGCC también se ha relacionado con la reversión de células neoplásicas, pudiendo participar en la prevención de los procesos cancerígenos. El acetato y el propionato, por su parte,

pasan a la circulación portal y se consumen en el hígado o en los tejidos periféricos. Como consecuencia de esta fermentación, también hay producción de ácido láctico además de los AGCC, estos productos ayudan a disminuir el pH en el colon, creando un ambiente donde las bacterias potencialmente patógenas no puedan crecer y desarrollarse, dicha acción es fundamentalmente responsabilidad de las bifidobacterias y los lactobacilos.

La microbiota probiótica también contribuye a mejorar y facilitar la digestión de las proteínas, gracias a sus enzimas proteásicas; de esta manera, las proteínas ingeridas se transforman en moléculas más pequeñas (polipéptidos y luego aminoácidos), haciéndolas más digestibles. Esta acción implica la capacidad que tienen los probióticos para mejorar la asimilación de los aminoácidos esenciales para el huésped, sintetizándolos o inhibiendo la acción de las desaminasas y de las descarboxilasas bacterianas producidas por la microbiota del tracto digestivo. Esta propiedad puede ser apreciada especialmente en pediatría, en geriatría, durante las convalecencias, y en todos los casos en que haya mala absorción. Como parte de las funciones de la microbiota sobre las proteínas, también se considera la degradación de éstas (putrefacción), donde son generados AGCC, pero al mismo tiempo, una serie de compuestos potencialmente tóxicos, como aminas, amonio, fenoles, fíoles e indoles; este proceso tiene lugar mayoritariamente en el colon distal.

Los lípidos también sufren una transformación por obra de la microbiota probiótica: la enzima lipasa de los probióticos los transforma en ácidos grasos y glicerol. Además de tener una función particularmente útil en las preparaciones dietéticas para lactantes, ancianos y convalecientes, la microbiota puede intervenir favorablemente en el tratamiento de las enfermedades del metabolismo de lípidos (desconjugación de las sales biliares y transformación del colesterol en los lípidos séricos de las hipercolesterolemias e hiperlipidemias).

Los microorganismos del colon también tienen un papel destacado en la síntesis de vitaminas (K, B12, B9, H, B2, B6) y en la absorción de diversos iones y metales como calcio, fósforo, magnesio y hierro. Esta actividad es particularmente útil justamente para la función fisiológica del aparato gastrointestinal; dentro de las

funciones metabólicas se pueden mencionar la degradación de diversos compuestos tóxicos, la eliminación de sustancias potencialmente carcinogénicas y/o mutagénicas, etc. Las vías implicadas en la inactivación de los compuestos tóxicos, gracias al trabajo de las bacterias lácticas, son la atenuación del catabolismo intradigestivo, orientando la función hepática; la acumulación de estos probióticos en la microbiota intestinal para reducir la absorción de sustancias tóxicas como el amoníaco, los aminados y el indol; y la disminución de la biotransformación de las sales biliares y de los ácidos grasos en productos tóxicos.

### Funciones tróficas

La mucosa intestinal es la mayor interfase entre el sistema inmune y el medio externo. Las interacciones entre el huésped y los microorganismos en el tejido linfoide son muy importantes para el desarrollo de un sistema inmune competente, de forma que la producción y la diferenciación de las células epiteliales está influenciada por el contacto con los microorganismos residentes. Las bacterias lácticas, y en particular los lactobacilos, son una de las poblaciones con mayor efecto estimulador del sistema inmunológico, tanto mediante efectos específicos como no específicos. Las bacterias tienen una acción estimulante sobre el sistema inmunitario del huésped, ya que actúan tanto sobre las células implicadas en la inmunidad natural, como en las relacionadas con la inmunidad específica, y también sobre los macrófagos. Además, parece que la presencia de los microorganismos probióticos favorece la reproducción de anticuerpos como la inmunoglobulina A (IgA), los cuales pueden inhibir la adherencia de las bacterias patógenas e interferir en las interacciones adhesinas-receptores celulares. Gracias a su acción sobre el sistema inmunitario, las bacterias lácticas pueden ser útiles, con fines de prevención, contra las infecciones intestinales, específicamente como inmunomoduladores.

### Efecto barrera

La acción antagonista hacia gérmenes patógenos es la acción más importante de la microbiota digestiva. Los distintos mecanismos que forman la primera línea de defensa del huésped de las infecciones intestinales se llaman resistencia a la



colonización, exclusión competitiva o efecto barrera. Las bacterias residentes son un mecanismo crucial de resistencia a la colonización por microorganismos exógenos, incluyendo las infecciones por patógenos. Varias son las rutas que se ven implicadas en el efecto barrera: la competencia por los sitios de anclaje a la superficie de las células epiteliales, la competencia por los nutrientes disponibles y la producción de inhibidores microbianos de diversos tipos (ácido láctico, ácido benzoico, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bacteriocinas y antibióticos). En la actualidad, se utilizan bacterias con distintas propiedades en la prevención o el tratamiento de enfermedades diferentes, algunas de las patologías en las que se ha hecho uso de los probióticos como agentes paliativos o curativos, son: disfunciones intestinales (intolerancia a la lactosa, estreñimiento y efecto hipolipemiante), infecciones gastrointestinales (por *Helicobacter pylori*, por rotavirus y diarrea por *Clostridium difficile* asociada al tratamiento con antibióticos), y enfermedades de base inmunológica (síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, alergia y sensibilidad a los alimentos, dermatitis atópica y artritis reumatoide); además, también pueden ser útiles como vehículos de enzimas y antibióticos que actúan en el intestino. Algunas otras enfermedades que pueden ser tratadas por acción de los probióticos, aunque no sean exclusivas del aparato digestivo, son las infecciones urogenitales y el cáncer.

En lo que concierne a la intolerancia a la lactosa, la mayoría de las bacterias que constituyen la microbiota subdominante, especialmente los lactobacilos, produce una relevante cantidad de betagalactosidasas. Esto resulta significativo ya que esta enzima producida por las bacterias lácticas parece estimular la producción de la lactasa residual a nivel del enterocito y, en consecuencia, se obtiene una mayor tolerancia a la lactosa.

Los efectos beneficiosos de los probióticos pueden ser extendidos a casi todo el organismo. Esto se ve reflejado en estudios donde el predominio de los lactobacilos en el aparato urogenital de sujetos sanos (más del 90% de las personas tratadas) se ha relacionado con un efecto de protección que éstos ejercen contra la invasión de las cavidades del cuerpo por parte de microorganismos patógenos, tanto endógenos como exógenos. De la misma manera, puede observarse esta acción en la prevención del cáncer. Numerosos

autores creen que la dieta es responsable de al menos un tercio de todos los procesos cancerosos; en especial, dietas con alto contenido en grasas o carnes rojas y bajo contenido en fibras, inducen cambios en la composición de la microbiota intestinal que podrían desencadenar el cáncer. Utilizando modelos animales y humanos, se ha visto que la utilización de varios tipos de bacterias lácticas reduce la actividad de las enzimas bacterianas implicadas en el desarrollo de tumores. Al mismo tiempo, las bacterias lácticas pueden intervenir en la prevención del cáncer manteniendo el sistema inmune competente (a través del aumento de la inmunidad específica y no específica). Existen claras asociaciones epidemiológicas entre el consumo de productos fermentados y una incidencia reducida en determinados tipos de cáncer.

Cabe mencionar que el papel de los probióticos puede verse afectado por el factor estrés que actualmente es parte del día a día de las personas, debido a su estilo de vida. Éste influye en la variación de la microbiota digestiva, provocando una alteración de la fisiología general y, por lo tanto, en el aparato digestivo. Cualquier situación de estrés produce un aumento de movimientos peristálticos y de las secreciones de HCl; como consecuencia, se modifica la microbiota y las actividades que dependen de ella (Álvarez y Bague, 2011b).

### 3.2.2 El papel de los componentes de la soya en la prevención del cáncer

El cáncer es una enfermedad en la que se acumulan daños en el material genético, se caracteriza por una división y crecimiento descontrolado de las células, dos son los elementos esenciales definitorios del cáncer: su crecimiento autónomo y su capacidad de invadir tejidos y colonizar lugares a distancia (metastatizar). El primero de esos elementos es propiedad de todas las neoplasias o nuevos crecimientos; si existe invasión, la neoplasia es maligna y se denomina “cáncer” (Sanz *et al.*, 2007g).

En 1990 el Instituto Americano de Cáncer reconoció, con base en los estudios realizados, que la soya tiene acción anticancerígena relacionada con componentes tales como los inhibidores de tripsina, las isoflavonas, el ácido fítico y el  $\beta$ -sitosterol (Messina, 1994; Potter, 2000). Recientemente las investigaciones han verificado la relación entre la actividad antioxidante de la soya y su capacidad

para retardar la proliferación de cáncer gástrico y colorectal (Xu y Chang, 2011). Las bajas tasas de cáncer de próstata y mama en Japón y China, consumidores habituales de soya, han fundamentado diversas investigaciones *in vitro* e *in vivo*, sobre los efectos preventivos de ésta, apoyándose también en sus efectos estrogénicos.

Algunas de las vías que pueden explicar este efecto positivo de la soya en la salud se deben al papel ejercido por los fitoestrógenos. Los mecanismos de acción que siguen estos compuestos parecen ser de 2 tipos: uno es estrógeno-dependiente (el trabajo es realizado mediante los receptores de los estrógenos y sobre las hormonas endógenas), mientras que el otro es estrógeno-independiente (se bloquean las enzimas necesarias para el crecimiento de células cancerosas y se inhibe el daño causado por los radicales libres (RL)) (Sanz *et al.*, 2007g; Guo, 2009).

En alimentos fermentados de soya han sido halladas las isoflavonas, consideradas un tipo de fitoestrógenos o estrógenos vegetales, dada la similitud estructural y funcional que presentan con los estrógenos humanos; éstas están presentes en su forma desglicosilada, siendo mayoritarias la daidzeína y la genisteína (Rowland *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2008; Torres, 2012). Las isoflavonas han manifestado capacidad preventiva respecto al cáncer, tanto por su actividad estrogénica, lo que las hace potencialmente útiles en procesos estrógeno-dependientes, como por mecanismos no hormonales (Sanz *et al.*, 2007g). Una de las isoflavonas más reconocidas de la soya es la genisteína, de la cual existen pruebas de laboratorio que muestran que ésta sería el principal anticancerígeno debido a sus propiedades antioxidantes y a su capacidad para bloquear el avance de las células del cáncer de próstata y mama. El mecanismo de acción de la genisteína en la prevención de patologías como el cáncer aún es parcialmente desconocido y se cree que tiene lugar por diferentes vías, entre las que se incluyen la inhibición de la actividad de enzimas (proteínas tirosina cinasas) que promueven el crecimiento de los tumores, bloqueo de la actividad hormonal e intervención en procesos celulares mediante los cuales las células cancerosas incorporan nutrientes y enzimas y se hacen resistentes a las terapias de cáncer (Sanz *et al.*, 2007g; Singh *et al.*, 2008; Torres, 2012).

### 3.2.3 La participación de los componentes de la soya en la prevención de enfermedades cardiovasculares

El colesterol es uno de los lípidos que forma parte del organismo, es sintetizado en el hígado, intestino y otros tejidos, y es transportado en sangre asociado a otros lípidos y a proteínas, en forma de lipoproteínas. Se puede considerar que en sangre hay 2 tipos de colesterol: el “bueno” (HDL: lipoproteínas de alta densidad) y el “malo” (LDL: lipoproteínas de baja densidad), la diferencia entre uno y otro radica en la función que ejerce cada uno. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) reducen el colesterol de los tejidos y evitan su depósito en los vasos sanguíneos, protegiendo así del desarrollo de la aterosclerosis; mientras que las lipoproteínas de baja densidad (LDL) contribuyen al depósito de colesterol en las arterias, facilitando el desarrollo de la placa ateromatosa. Unos niveles altos de colesterol en plasma, y en particular de las LDL, pueden llevar al padecimiento de una enfermedad cardiovascular, como lo es la aterosclerosis, la cual puede desembocar en la ruptura de la placa ateromatosa y obliteración de las arterias, con el riesgo de producir un infarto de miocardio o un bloqueo de la circulación que llega al cerebro.

Algunos de los factores causantes de una enfermedad cardiovascular son intrínsecos del individuo, como es el caso de los factores genéticos o el padecimiento de alguna enfermedad, como por ejemplo el hipotiroidismo, enfermedades renales y diabetes, las cuales deben ser tratadas clínicamente de forma primaria antes de establecer alguna estrategia terapéutica para reducir los niveles de colesterol. Sin embargo, hay otros factores de riesgo modificables, entre los que se pueden mencionar la hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, colesterol LDL elevado, colesterol HDL bajo, hipertensión, obesidad y la dieta, esta última con un gran impacto en varios de estos factores. De acuerdo con esto, estudios epidemiológicos han demostrado que la incidencia de enfermedades cardiovasculares es más baja en Asia que en países occidentales, lo que, además de relacionarse con su genética, se ha atribuido a factores dietéticos, en particular, al elevado consumo de productos derivados de la soya. En un producto fermentado como es el yogurt de soya, este efecto benéfico en la salud puede

deberse a las proteínas de soya y a la presencia de isoflavonas (Sanz *et al.*, 2007d; Guo, 2009).

Con respecto a los efectos que pueden tener las proteínas de soya en la salud del consumidor, hay estudios realizados en animales donde se ha observado que los aminoácidos Lys y Met tienden a elevar los niveles de colesterol, mientras que la arginina (Arg, R) tiene el efecto contrario; en relación con esto, la proteína de soya, comparada con fuentes de proteína animal, presenta una mayor proporción de Arg que de Lys y Met (Guo, 2009). La soya es una leguminosa versátil que contiene proteína de alta calidad, de la cual el 90% está comprendido por 2 globulinas de almacenamiento: 11S glicinina y 7S  $\beta$ -conglucina; estas proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales para la nutrición humana, lo que hace que los productos de soya sean muy parecidos a las fuentes animales en proteína de calidad, pero con menos grasa saturada y un muy buen perfil de ácidos grasos insaturados (Álvarez y Serra, 2012). En estudios con cultivos celulares se sugiere que estas globulinas estimulan la actividad del receptor LDL; esto a su vez es fundamentado con varios estudios clínicos, donde es sugerido que el consumo de proteína de soya regula los receptores LDL en humanos. Otro mecanismo relacionado con las proteínas de la soya implica la formación de 2 fracciones distintas por acción de proteasas, una fracción es insoluble y de alto peso molecular y la otra, es soluble y de bajo peso molecular; la primera demostró disminuir los niveles de colesterol en sangre mediante un incremento de excreción fecal de esteroides. La teoría de que la proteína de soya reduce el colesterol mediante una mayor excreción de bilis se ha explorado ampliamente; con base en esto, se ha conocido que la pérdida de colesterol del cuerpo, en forma de bilis, hace que el hígado proporcione más colesterol para aumentar la síntesis de ácidos biliares y que aumente la actividad de los receptores LDL. De esta manera, el resultado final es un incremento en la remoción de colesterol LDL en la sangre (Guo, 2009).

La soya, además de proteína, contiene isoflavonas, no se ha demostrado que éstas tengan directamente un efecto reductor del colesterol en sangre, pero precisamente su asociación con la proteína de soya puede incrementar los efectos de ésta reduciendo los niveles de colesterol total y de colesterol LDL (Sanz *et al.*,

2007d). Las isoflavonas tienen efectos estrogénicos débiles tanto en animales como en humanos; esto significa que entre sus beneficios tienen la capacidad de disminuir el colesterol LDL y de incrementar el colesterol HDL, como los estrógenos, pero con menor potencia (Guo, 2009). Sin embargo, se ha propuesto que las isoflavonas de la soya ejercen numerosos efectos beneficiosos sobre la función cardiovascular incluyendo reducción en los lípidos séricos, reducción en la formación de la placa aterosclerótica, mejoría en la función vascular, reducción en la tensión arterial y efectos antioxidantes, esto último es debido a su capacidad para inhibir la oxidación del colesterol LDL (Álvarez y Serra, 2012). De acuerdo con esto, se ha demostrado que la proteína de soya con isoflavonas (20% de la dieta) también inhibe la formación de lesiones ateroscleróticas; en específico, se ha observado que la genisteína es capaz de inhibir la tirosina cinasa, la cual es una enzima implicada en una cascada de reacciones que llevan a la formación de trombos y lesiones cardíacas (Guo, 2009).

#### 3.2.4 Intervención de los componentes de la soya en la prevención y tratamiento de las afecciones óseas

La clave del metabolismo del hueso es el balance entre su formación y su destrucción, determinantes de la masa ósea adecuada, que dependen del estilo de vida, la dieta, la actividad física durante la etapa de crecimiento y del aumento de la reabsorción en edades más avanzadas por déficit de estrógenos. La asociación entre descenso de la densidad mineral ósea y riesgo de fractura es un fenómeno preocupante de especial relevancia en la mujer posmenopáusica. La formación ósea requiere la ingesta diaria de proteínas, calcio, frutas y verduras; las proteínas pueden proceder de cualquier fuente animal o incluso de alguna fuente vegetal, como la soya.

La osteoporosis es una enfermedad que afecta principalmente a las mujeres mayores en la cual los huesos se vuelven porosos y se fracturan fácilmente. La Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral (SEIOMM) la define como una enfermedad sistemática esquelética caracterizada por una baja masa ósea y resistencia ósea disminuida que predispone a una persona a un riesgo aumentado de fractura. La importancia de esta enfermedad se debe a sus características epidemiológicas, ya que afecta aproximadamente a unos 75

millones de personas en el mundo occidental, por lo que se convierte en un problema de salud pública de primer orden. Uno de los problemas a los que se enfrenta la sociedad es que es una enfermedad indolora en sus comienzos y cuya progresión es lenta y silenciosa.

Las menores tasas de osteoporosis y de fracturas de cadera en las mujeres de países consumidores de soya llevaron a la hipótesis de que las proteínas de soya, ricas en isoflavonas, y las isoflavonas aisladas mejoran la salud ósea a través de sus efectos estrogénicos, lo cual apoya los estudios epidemiológicos en Asia, donde encontraron densidad mineral ósea más elevada en consumidoras frecuentes de soya que en aquéllas que consumían menores cantidades. Por una parte, la proteína de soya parece ser que causa menor pérdida de calcio del cuerpo comparada con otras fuentes dietarias de proteína, las cuales pueden promover dicha pérdida y la fractura de huesos a altos niveles. Un factor que puede afectar de forma adversa la salud de los huesos es el tipo de proteína dietaria y una alta ingesta de ésta, lo que podría llevar a padecer osteoporosis debido a un incremento en la excreción urinaria de calcio, este efecto es atribuido a la presencia de aminoácidos sulfurados (Met y Cys), los cuales son metabolizados a sulfato e hidrógeno proporcionando un medio ácido; ya que la naturaleza del sistema esquelético es ser la mayor fuente alcalina, en respuesta a las condiciones ácidas, el calcio es filtrado de los huesos resultando en un incremento de su excreción. Por ello, son importantes los estudios que fundamentan el consumo de proteína de soya como sustituto de las proteínas animales, pues este efecto asociado con mayores riesgos de fracturas, no es observado tras el consumo de soya, ya que ésta presenta un menor contenido de aminoácidos sulfurados (Sanz *et al.*, 2007e; Guo, 2009).

La similitud estructural de las isoflavonas con los estrógenos fue sospechada durante mucho tiempo como una explicación al efecto observado de menor incidencia de lesiones óseas, atribuibles a la osteoporosis, en mujeres posmenopáusicas en Oriente. Sin embargo, el primer trabajo completo publicado sobre uno de los procesos existentes se conoció en 1998 y detalló los efectos de la soya en la reabsorción ósea (Ridner, 2006a). Particularmente se ha comprobado que una isoflavona sintética (ipriflavona) obtenida a partir de la

daidzeína, incrementa la masa ósea en las mujeres posmenopáusicas, con una consecuente prevención de la pérdida de hueso tanto a corto como a largo plazo. En estudios *in vitro* se ha observado que las isoflavonas favorecen la proliferación y la diferenciación osteoblástica, igualmente, la síntesis de colágeno; la genisteína y la daidzeína manifestaron efecto anabólico sobre el hueso, aumentando el contenido óseo de calcio y fosfatasa alcalina e inhibiendo el reclutamiento y la actividad osteoclástica. Aun cuando el efecto estrogénico de la isoflavonas activa un mecanismo por el cual la soya puede promover la salud ósea, los efectos no-hormonales de las isoflavonas también pueden jugar su papel; de hecho, la mayor parte de los estudios enfocados en esta propiedad de la soya, se han realizado con el producto sintético ipriflavona que, por no tener efectos estrogénicos, representa un menor riesgo en el caso de copatología de cánceres dependientes (Sanz *et al.*, 2007e).

### 3.2.5 Indicaciones terapéuticas de los componentes de la soya en la afección renal y el control de Diabetes Mellitus

La “hipótesis de la proteína de soya” sugiere que la sustitución de la proteína animal por proteína de soya en individuos diabéticos resulta en una menor hiperfiltración e hipertensión glomerular; por lo tanto, puede proteger contra una nefropatía diabética. De acuerdo con esto, se piensa que la incorporación de soya en la dieta puede tener beneficios terapéuticos en la nefropatía diabética mediante la disminución del deterioro de la función renal y de la proteinuria (presencia excesiva de proteína en la orina). Hay información disponible que indica que dicha sustitución es asociada con una menor hiperfiltración postprandial y una menor albuminuria, esta última consiste en un proceso patológico manifestado por la presencia de albúmina en la orina ya que hay un fallo renal y se presenta con cierta frecuencia en pacientes que padecen Diabetes Crónica, en especial la tipo I. La incorporación a corto plazo (3 semanas) de la proteína de soya en la dieta ha sido asociada con un menor flujo sanguíneo renal, una menor tasa de filtración glomerular y una disminución fraccional de albúmina (Guo, 2009).

En relación con esto, se ha investigado el efecto de la soya sobre la función renal, considerando que la composición de la proteína de soya es diferente a la proteína animal. Algunos estudios en animales indican que la ingesta frecuente de proteína



de soya preserva la función de los riñones dañados mejor que la proteína animal; a diferencia de la caseína, en ratas la proteína de soya no contribuye al daño glomerular. Del mismo modo, diversos componentes de la soya, podrían prevenir la evolución de la Insuficiencia Renal Crónica mediante mecanismos aún no confirmados. En el caso de personas con diabetes, se ha visto que la soya mejora varios parámetros beneficiosos debido a que su capacidad para tratar esta enfermedad se realiza a través de la regulación de glucosa en la sangre; en dado caso de tratarse de personas diabéticas con enfermedad renal, su efecto benéfico radica especialmente en la reducción de la albuminuria (Ridner, 2006a; Guo, 2009; Álvarez y Bague, 2011b).

Con base en los distintos estudios se avala la utilidad de la proteína de soya en la función renal y en personas que padecen diabetes, pues en términos generales esta proteína no aumenta la velocidad de filtrado ni el flujo sanguíneo renal. Por lo tanto, los alimentos a base de soya resultan beneficiosos para diabéticos y/o personas con afecciones renales, ya que, en comparación con las proteínas de origen animal, aportan valores por debajo de la capacidad de filtración y disminuyen la carga renal (Ridner, 2006a).

### 3.2.6 Control y uso terapéutico de los componentes de la soya en la menopausia

El climaterio es un periodo en la vida de la mujer en el que tiene lugar la desaparición de la función reproductiva a la vez que se producen importantes cambios en la secreción hormonal que condicionan cambios a nivel del tracto genital, la circulación periférica, el metabolismo de los huesos, el sistema cardiovascular, la piel, entre otros. Definido así, la menopausia es un signo más del conjunto de fenómenos que engloban esta etapa de la vida; por ello, el concepto de climaterio comprende la perimenopausia y la posmenopausia, y se extiende hasta la senectud. La menopausia se debe considerar como un evento normal en la vida de la mujer, y no una enfermedad. Es una etapa de transición caracterizada por la falta de las hormonas sexuales, y por ello se pueden agudizar algunos problemas de salud que son susceptibles de cuidados nutricionales específicos. La sintomatología de la menopausia aparece cuando los ovarios de la mujer disminuyen la producción de las hormonas femeninas (estrógenos y progesterona), pero será en último término la reducción de estrógenos la que dará

lugar a la aparición de los síntomas acompañantes, así como a los cambios que ocurren en el organismo. Estos síntomas pueden ser a corto plazo (sofocos, sudoración, fatiga, irritabilidad), a mediano plazo (alteraciones de la piel, vaginales y urológicas, cambios de humor, y disminución de la calcificación de los huesos) y a largo plazo (osteoporosis, complicaciones cardiovasculares y ganancia de peso). Los síntomas climatéricos son frecuentes y pueden deteriorar notablemente la calidad de vida de la mujer (Sanz *et al.*, 2007f; Fajardo y Varela, 2012).

Con el aumento de la esperanza de vida media de las mujeres, actualmente la menopausia supone más de un tercio de toda la vida de la mujer. El tratamiento más habitual para los síntomas climatéricos solía ser, hace unos años, el tratamiento hormonal sustitutivo (THS), aunque desde que se dieron a conocer estudios referentes a esto, su uso ha disminuido en los últimos años debido al temor hacia los posibles efectos secundarios a nivel cardiovascular y de mamas. El recelo a los tratamientos farmacológicos ha hecho que muchas mujeres utilicen la medicina complementaria y alternativa para el alivio de sus síntomas perimenopáusicos, incluyendo no sólo suplementos dietéticos y hierbas medicinales, sino también ciertos AF, como los productos fermentados de la soya (Sanz *et al.*, 2007f). En 2002, independientemente de los efectos sobre los síntomas menopáusicos, fue sugerido el consumo regular de soya en la menopausia por sus efectos sobre la salud cardiovascular coincidentes con la caída de la producción de estrógenos y por su efecto ahorrador de la desmineralización ósea, especialmente en las vértebras.

Las primeras observaciones sobre la menor incidencia de algunos síntomas propios de la menopausia (esencialmente sofocos) entre poblaciones que consumen regularmente soya, son de principios de los 90 (Ridner, 2006a). Ha habido diferentes estudios que han tratado de evaluar el efecto que tendría el consumo regular de soya en la prevención y/o alivio de los síntomas; se ha hallado una asociación inversamente proporcional entre los sofocos y el consumo de soya, tanto per se como a través de sus isoflavonas, con una incidencia del 20%, aproximadamente, mientras que en las mujeres de países occidentales se sitúa cerca del 80%. La eficacia de la soya para esta indicación se investigó durante los años 90 en estudios aleatorizados y controlados con placebo. El consumo de la

soya redujo el número y/o la intensidad de los sofocos (Fajardo y Varela, 2012). Los resultados de los estudios epidemiológicos parecen indicar que la alta ingesta de productos de soya en Asia es una de las razones de la baja prevalencia de síntomas menopáusicos en las mujeres asiáticas; por ello, en Japón, donde el consumo de soya es muy alto, los síntomas de menopausia de cualquier tipo son raramente reportados (Guo, 2009). Con relación a su biodisponibilidad, se determinó que la absorción de las isoflavonas puede ser adecuada, ya sea estando contenidas en alimentos líquidos de soya o en productos fermentados (Ridner, 2006a).

En mujeres que producen pequeñas cantidades de estrógeno, los fitoestrógenos podrían producir suficiente actividad estrogénica para aliviar los síntomas como los sofocos; incluso, pueden ser de gran ayuda para mantener la densidad de la piel, conservándola hidratada, elástica y tersa (Guo, 2009; Torres, 2012). La soya contiene fitoestrógenos, que son principalmente compuestos fenólicos en los que se incluyen las isoflavonas; existen 3 formas libres mayoritarias de isoflavonas: genisteína, daidzeína y gliciteína, y 2 minoritarias: formononetina y biochanina. Se cree que los fitoestrógenos tienen efectos estrogénicos y no-estrogénicos, dependiendo del nivel de hormonas circulantes y de la disponibilidad de receptores; existen 2 tipos de receptores estrogénicos: alfa y beta ( $ER\alpha$  y  $ER\beta$ ). Entre los mecanismos de acción de los fitoestrógenos, se destaca la capacidad para unirse a los receptores estrogénicos, presentando una elevada selectividad por los  $ER\beta$  (de 7 a 30 veces mayor) frente a los de tipo  $\alpha$ ; esto puede explicar el efecto positivo sobre el sistema nervioso central, los vasos sanguíneos y el sistema óseo. Estos receptores tienen funciones características de acuerdo con lo siguiente (Sanz *et al.*, 2007f; Fajardo y Varela, 2012):

- Receptores  $\alpha$ : están presentes en las mamas, útero, ovarios, testículos e hígado. La unión continuada de los estrógenos a estos receptores predispone al desarrollo de tumores; son procancerígenos. Así, los fitoestrógenos que se unen a los receptores  $\alpha$  evitarían que los estrógenos se unan a ellos, funcionan como bloqueadores de estos receptores, y por tanto ayudarían potencialmente a reducir el riesgo de padecer cáncer.

- Receptores  $\beta$ : están presentes en algunas células de la sangre, pulmones, próstata, vejiga, huesos y timo, son los responsables de los posibles efectos beneficiosos. Los fitoestrógenos se unen a estos receptores cuando la cantidad de estrógenos es baja. Funcionan imitando la acción de los estrógenos.

### 3.2.7 Integración de los componentes de la soya a la dieta como prevención y tratamiento de la obesidad

La obesidad se define habitualmente como el exceso de grasa corporal y es el resultado de un balance positivo de energía, es decir, del consumo de una dieta de valor calórico superior a las necesidades del sujeto, que desborda la capacidad del complejo sistema de regulación de la homeostasis energética y se traduce en un aumento de la adipogénesis. Sin embargo, es importante señalar que junto a la masa grasa se produce un crecimiento excesivo y desequilibrado de otras estructuras orgánicas y que esta alteración global de la composición corporal es responsable de los cambios fisiológicos y de las numerosas comorbilidades que se observan en estos pacientes. Algunas de estas enfermedades relacionadas con el estilo de vida son la hiperlipidemia, diabetes tipo II, hipertensión, enfermedades coronarias, derrames, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y hepatoesteatosis (Sanz *et al.*, 2007c; Guo, 2009).

Para valorar de una forma aproximada el grado de obesidad, se hace uso del Índice de Masa Corporal (IMC) o Índice de Quetelet (peso en kg/ talla<sup>2</sup> en m), el cual es cada vez más utilizado y recomendado por los organismos internacionales. En 1998, la OMS expuso los criterios para definir el normopeso, el sobrepeso y la obesidad utilizando este índice, los cuales han sido aceptados por la mayoría de los países (Ver Tabla 3.1).

Su diagnóstico debe precisar la etiología, el grado o intensidad y la distribución regional o patrón morfológico del acúmulo de grasa, este último se correlaciona más estrechamente con la alteración del metabolismo de los carbohidratos, de los lípidos plasmáticos y el riesgo de enfermedad cardiovascular que el grado de obesidad (Ver Figura 3.3). Las consecuencias más graves de la obesidad son las derivadas de su repercusión endocrina-metabólica, especialmente las alteraciones

del lipidograma y la disminución de sensibilidad a la insulina, responsables de las comorbilidades más frecuentes y graves. Solamente en un número muy reducido de casos, es debida a enfermedades genéticas o endocrinas, el resto corresponden a la denominada “obesidad exógena” o nutricional, ligada etiopatogénicamente a la ingesta de dietas hipercalóricas y/o a la escasa actividad física, que a su vez pueden estar asociadas a una predisposición genética para conservar y almacenar la energía (Sanz *et al.*, 2007c).

Tabla 3.1 Criterios para definir el peso en grados según el IMC

Grado de peso	Valores límite del IMC
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso	25,0-29,9
Obesidad tipo I	30,0-34,9
Obesidad tipo II	35,0-39,9
Obesidad tipo III	>40

Fuente: Sanz *et al.*, 2007c

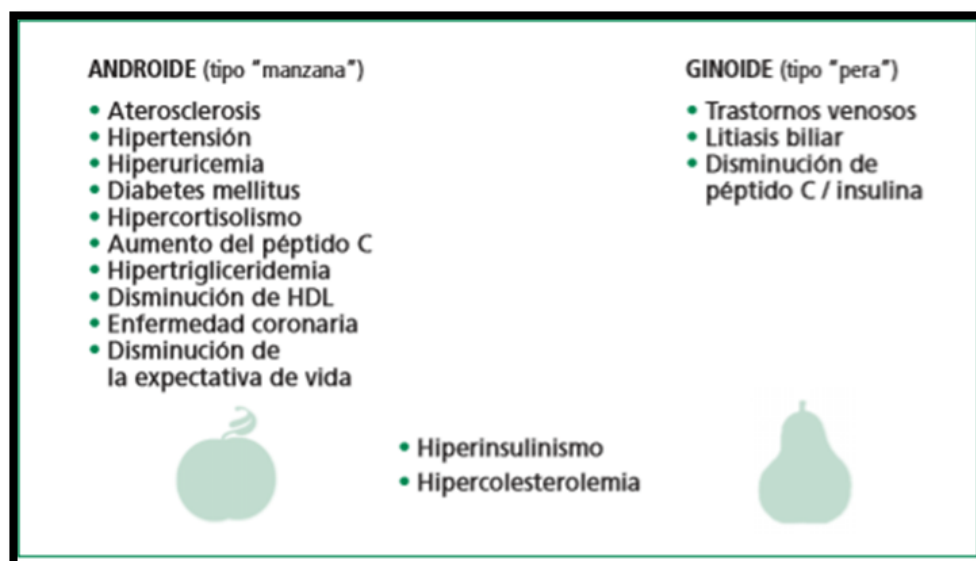


Figura 3.3. Posibles complicaciones en la salud, según la morfología del sujeto

Fuente: Sanz *et al.*, 2007c

La primera opción para controlar la obesidad es reducir el consumo de energía mediante la disminución de la ingesta de alimentos y el incremento de gasto de energía a través de ejercicio (Guo, 2009). Un tratamiento completo comprende: restricción calórica relativa, motivación y ejercicio físico, todo ello apoyado en una educación nutricional correcta del paciente y de la familia, junto con la aplicación de técnicas sencillas de modificación de la conducta; si se trata de un caso grave, la asociación de tratamiento farmacológico o quirúrgico también es necesaria.

La inclusión de bebidas u otros preparados de soya en la dieta de una persona con obesidad es de gran utilidad, ya que cubre 2 objetivos importantes (Sanz *et al.*, 2007c). En primer lugar, está la búsqueda de alimentos con mayor poder de saciedad, y la proteína de soya muestra que disminuye el consumo de energía respecto a la proteína animal; esto es porque la ingesta de proteínas produce un gasto energético postprandial significativamente mayor que la ingesta del mismo número de calorías provenientes de glucosa y lípidos en humanos, lo que facilita la restricción calórica, manteniendo el aporte proteico, con una proteína de alta calidad (Ridner, 2006a; Guo, 2009). La otra aportación importante es la capacidad para corregir las alteraciones metabólicas que son responsables de las principales comorbilidades de la obesidad, esto ya ha sido probado a través de varios estudios realizados en humanos y animales obesos, los cuales sugieren que la soya como una fuente de proteína dietaria tiene efectos antiobesidad significativos, ya que se cree que esto implica el aumento del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos (Guo, 2009). La composición de los productos de soya en los obesos contribuye a la pérdida de peso, a expensas preferentemente de la disminución del tejido adiposo, preservando la masa muscular y mejorando la composición corporal. Los componentes responsables de estos beneficiosos efectos son la particular composición de sus proteínas, la escasa presencia de ácidos grasos saturados con el buen perfil de ácidos grasos insaturados, el contenido de fibra y el elevado contenido de isoflavonas. Las acciones específicas de cada uno de estos componentes y la sinergia entre ellos reducen las alteraciones metabólicas, disminuyendo la adipogénesis y la secreción de insulina, incrementando la lipólisis en el hígado y en los adipocitos, y ejerciendo una acción antioxidante (Sanz *et al.*, 2007c).

### 3.2.8 Indicación terapéutica de los componentes de la soya como alternativa al consumo de productos lácteos

Algunos alimentos pueden causar en ciertos individuos reacciones adversas que pueden deberse tanto a una intolerancia como a una alergia a algún elemento en concreto, sin contar por supuesto todas las reacciones por alimentos tóxicos o en estado tóxico.

La intolerancia alimentaria es una reacción metabólica o respuesta inapropiada del organismo ante una sustancia que él identifica como agresora. En estos casos, al no intervenir el sistema inmunológico, la defensa ante la agresión es simplemente digestiva o dermatológica; y como se debe a la acción de las sustancias que contienen los alimentos, los síntomas pueden manifestarse por una saturación al consumo “excesivo” o por alteración de la mucosa digestiva que se haya ido sensibilizando. Un ejemplo de este tipo de reacción es la intolerancia a la lactosa, que se da en ciertas personas por la carencia de una enzima digestiva llamada “lactasa”. El tratamiento se basa en suprimir el consumo de lactosa, representando una gran alternativa el yogurt de soya al tratarse de un alimento que desde su origen no contiene lactosa y es fácilmente digestible.

Con respecto a las reacciones inmunológicas o alergias alimentarias, éstas son definidas como respuestas inapropiadas del organismo ante una sustancia denominada “alérgeno”, que es un macro o micronutriente o un aditivo presente en un alimento con el que se entra en conexión por ingestión o por contacto externo. Cuando se trata de una alergia a la proteína de la leche (caseína), una forma segura de manejarla es evitar de por vida la ingesta de leche en cualquiera de sus presentaciones a través del consumo de productos alternativos, como el yogurt de soya; por ello, éste es considerado un producto muy completo nutricional, sensorial y funcionalmente (Torres, 2012).

## 4. Los péptidos bioactivos (PBAs) en el yogurt de soya

### 4.1 Introducción a los PBAs

#### 4.1.1 Definición

Entre los componentes de los AF, provenientes de los hidrolizados proteínicos de tipo extensivo (hidrólisis >10%), uno de los más novedosos y prometedores son los PBAs, derivados de proteínas alimentarias (Pihlanto-Leppälä, 2001; León *et al.*, 2015). El primer PBA derivado de los alimentos fue identificado en la década de los 50's, cuando Mellander informó que algunos péptidos fosforilados derivados de la caseína mejoraban la calcificación de los huesos en bebés que padecían de raquitismo (Vizcardo y Zavala, 2016).

Los PBAs son secuencias cortas de aproximadamente 3-20 aas de longitud que se encuentran encriptados en sus proteínas precursoras, donde no presentan actividad fisiológica y se sabe que son inactivos; sin embargo, una vez liberados por hidrólisis o fermentación microbiana, los péptidos libres se convierten en fisiológicamente activos (bioactivos) y ejercen un gran número de funciones biológicas beneficiosas para la salud humana (Hartmann y Meisel, 2007; Vizcardo y Zavala, 2016).

Como un requisito indispensable, para que este componente dietario bioactivo sea considerado como tal, la bioactividad medida debe tener al menos el potencial suficiente para afectar la salud de una manera benéfica, excluyendo posibles daños o efectos adversos, como por ejemplo toxicidad, alergenicidad y mutagenicidad (Korhonen y Pihlanto-Leppälä, 2006; Hartmann y Meisel, 2007).

#### 4.1.2 Generación de los PBAs

Los PBAs son generados a partir de proteínas de los alimentos por medio de hidrólisis tanto *in vivo* como *in vitro*, durante la fermentación de alimentos utilizando cultivos proteolíticos e incluso, mediante procesos biotecnológicos (Murakami *et al.*, 2004; Vizcardo y Zavala, 2016). Cualquier proteína independientemente de sus funciones y calidad nutricional, puede ser empleada como fuente de PBAs. De esta forma se puede establecer la generación de PBAs como un nuevo criterio para evaluar el valor de una proteína, además de los usualmente empleados como el contenido de aas esenciales, el valor biológico,



las propiedades de alergenicidad y la presencia de factores no nutritivos. Se han encontrado PBAs a partir de diversas fuentes proteicas, de las cuales tienen especial atención las proteínas de origen vegetal debido a su mayor disponibilidad y menor costo con respecto a las de origen animal. Los posibles mecanismos para la liberación de los PBAs son (Kitts y Weiler, 2003; León *et al.*, 2015):

- a) Hidrólisis con enzimas digestivas, durante la ingesta o *in vitro*.
- b) Hidrólisis con microorganismos proteolíticos (fermentación).
- c) Acción de enzimas proteolíticas derivadas de microorganismos o plantas.
- d) Combinación de los métodos.

En general, la hidrólisis de cualquier tipo produce la fragmentación de las proteínas en péptidos más pequeños o aas libres (Vizcardo y Zavala, 2016). En lo que respecta a la obtención de PBAs por hidrólisis enzimática, este proceso se ha realizado mediante el empleo de enzimas de origen animal (pepsina, tripsina y quimotripsina), vegetal (papaína y bromelina) y microbiano (proteinasas K y proteasas asociadas a la pared celular de las BAL, entre otras). La producción de PBAs a través de este método presenta algunas ventajas como la reducción de los costos de producción con respecto a los procesos de fermentación, buena reproducibilidad y un adecuado control del proceso con la posibilidad de incorporar el hidrolizado resultante a una gran variedad de alimentos (FitzGerald *et al.*, 2004; Otte *et al.*, 2007). Entre las enzimas específicas más utilizadas se encuentran pepsina, tripsina, quimotripsina y renina, las cuales actúan como endopeptidasas, mientras que la carboxipeptidasa A presenta actividad de exopeptidasa. La pepsina es la principal enzima gástrica que degrada las proteínas en el estómago durante la digestión, tiene actividad endopeptidasa, hidrolizando preferentemente por el extremo C-terminal de los residuos aromáticos Phe, Tyr y Trp. Esta enzima es secretada al estómago como pepsinógeno, el cual es su precursor inactivo, que se convierte en su forma activa a pH 1.5 y se inactiva preferentemente con un pH superior a 6. Por otra parte, la pancreatina incluye proteasas como tripsina, quimotripsina, elastasa, carboxipeptidasas, así como las enzimas amilasa, lipasa pancreática y nucleasas (componentes del fluido pancreático); tripsina, quimotripsina y elastasa son serinproteasas (hidrolasas que poseen en su centro activo un aa serina (Ser, S)), con actividad de endopeptidasas ya que hidrolizan

enlaces internos de los péptidos. La hidrólisis con pancreatina resulta en una mezcla de pequeños oligopéptidos (60-70%) y aas libres (30-40%).

Si el proceso de hidrólisis enzimática no se controla, el pH de la solución cambiará drásticamente debido a la formación de grupos amino y carboxilo nuevos, los cuales son capaces de aceptar o liberar protones, dependiendo del pH del medio. A un pH bajo, la protonación de este proceso causa el incremento del pH, ya que todos los grupos amino están protonados y solamente parte de los grupos carboxilo están desprotonados, resultando en una captación neta de protones por cada enlace peptídico roto. Mientras que, a pH neutro y alcalino, la hidrólisis descontrolada resulta en una disminución del pH, pues todos los carboxilos están desprotonados y solamente parte de los grupos amino están protonados. Debido a la hidrólisis, las propiedades moleculares de las proteínas cambian, produciéndose la disminución del peso molecular, el aumento de la carga y la liberación de grupos hidrofóbicos, entre otros fenómenos. Este mecanismo es la elección principal, sin embargo, presenta algunas desventajas tales como la necesidad de utilizar procesos químicos o térmicos para detener la reacción de proteólisis, lo que podría afectar los atributos finales de las proteínas hidrolizadas (León *et al.*, 2015).

Por otro lado, el siguiente mecanismo por el que se desarrolla la producción de PBAs, es la fermentación. La fermentación natural o controlada se ha explotado desde hace miles de años para preservar distintos alimentos y mantener o alterar sus propiedades nutritivas y/o sensoriales. Actualmente, la fermentación bacteriana es uno de los métodos utilizados para producirlos; este método hace uso del sistema proteolítico de las BAL, capaz de degradar las proteínas de los alimentos en péptidos y aas durante el proceso de fermentación. En este contexto, las BAL se emplean tradicionalmente por la industria alimentaria como cultivos iniciadores.

Durante el proceso fermentativo, tanto el sistema proteolítico de las BAL empleadas como cultivos iniciadores, como el de la microbiota endógena potencialmente presente en el sustrato alimentario, se encargan de la hidrólisis de las proteínas (FitzGerald y Murray, 2006; Vizcardo y Zavala, 2016). Los

lactobacilos y las bifidobacterias se han convertido en los probióticos más empleados en la elaboración de diferentes productos lácteos y tipo lácteos fermentados. Estas bacterias producen enzimas proteolíticas capaces de hidrolizar las proteínas liberando péptidos y aas, que utilizan como fuente de nitrógeno, esencial para su crecimiento; mientras que los péptidos generados que no son consumidos, pueden promover diversas funciones fisiológicas en los humanos, esto significa que son capaces de ejercer distintas actividades biológicas que podrían contribuir a las propiedades benéficas atribuidas a los productos fermentados y a las propias BAL. Durante el procesado y almacenamiento de los productos fermentados, las proteinasas son capaces de hidrolizar las proteínas del alimento para generar oligopéptidos. Los péptidos originados contribuyen, por tanto, al cambio en las propiedades reológicas, sensoriales y biológicas del producto fermentado (Kunji *et al.*, 1996; Juille *et al.*, 2005; Korhonen y Pihlanto-Leppälä, 2006; Vizcardo y Zavala, 2016).

#### 4.1.3 Aspectos regulatorios

Desde principios del siglo XXI, un énfasis creciente se ha dado lugar a nivel mundial con respecto a los aspectos de seguridad y regulación legal de las propiedades saludables relacionadas con los productos alimenticios. Este cambio ha sido exigido debido a varias catástrofes de la salud reportadas y causadas por productos alimenticios fraudulentos o no aptos para su consumo. Las autoridades alrededor del mundo han desarrollado enfoques sistemáticos para la revisión y evaluación de datos científicos. La evidencia sobre los efectos beneficiosos de un AF debe ser detallada, amplia y concluyente, lo suficiente para su uso en el etiquetado y comercialización de un producto al que se le atribuyen propiedades saludables; aunado a esto, la información presentada en la etiqueta debe ser bien entendida por el consumidor promedio.

En el caso de tratar con componentes como los PBAs, primero es necesario identificar y cuantificar las secuencias activas de los péptidos en el alimento consumido. Luego se realizan investigaciones meticulosas para probar la actividad ejercida por el péptido en el organismo humano, así como la dosis mínima requerida para mostrar ese efecto positivo; esto es imprescindible para cumplir con los requerimientos dictados por la legislación sobre propiedades saludables

que pueden ser aprobadas en el país donde se comercializa un producto de este tipo (Pihlanto y Korhonen, 2015).

Si bien las aplicaciones de los péptidos son distintas, es necesario tomar en cuenta la obtención, purificación y caracterización de éstos para poder determinar la secuencia de aas que presenten la actividad y de acuerdo a su estructura incorporarlos a sistemas alimenticios o productos para realizar sus actividades biológicas (León *et al.*, 2015). Por lo tanto, cuando se formulan productos innovadores que contienen PBAs, hay atributos importantes que deben ser considerados como son: la integridad de la estructura química de los péptidos, sus interacciones con los componentes de la matriz alimenticia y las propiedades organolépticas (Pihlanto y Korhonen, 2015).

## **4.2 Presencia de PBAs en el yogurt de soya**

### **4.2.1 Origen de los PBAs en el yogurt de soya**

Desde 1990, numerosos péptidos y fracciones de péptidos con propiedades bioactivas han sido identificados en diferentes alimentos fermentados (Pihlanto y Korhonen, 2015), esto debido a la proteólisis de las proteínas, originarias del alimento, que ocurre como resultado de la fermentación (Muro *et al.*, 2011).

La fermentación es uno de los principales procesos usados en la producción de alimentos provenientes de la soya, esta última es considerada como una fuente importante de liberación de PBAs durante dicho proceso (Pihlanto y Korhonen, 2015). En un estudio, tras la hidrólisis *in vitro* (mediante pepsina y pancreatina) de semillas de soya y proteínas de la bebida de soya, se identificaron 2430 péptidos de 5-49 residuos de aas; luego se procedió a la búsqueda de estas secuencias en la base de datos virtual BioPep, y en particular se detectaron 3 PBAs importantes (Vizcardo y Zavala, 2016). Hasta la fecha, una variedad de PBAs ha sido identificada en las subunidades de las proteínas de soya glicinina y  $\beta$ -conglucina, así como en los inhibidores de Kunitz y Bowman-Birk (Pihlanto y Korhonen, 2015); otro péptido reconocido y de gran relevancia es la lunasina (Vizcardo y Zavala, 2016).

A partir de las globulinas de la soya se generan péptidos con pesos moleculares de aproximadamente 30 kDa, un gran porcentaje de este material se ha

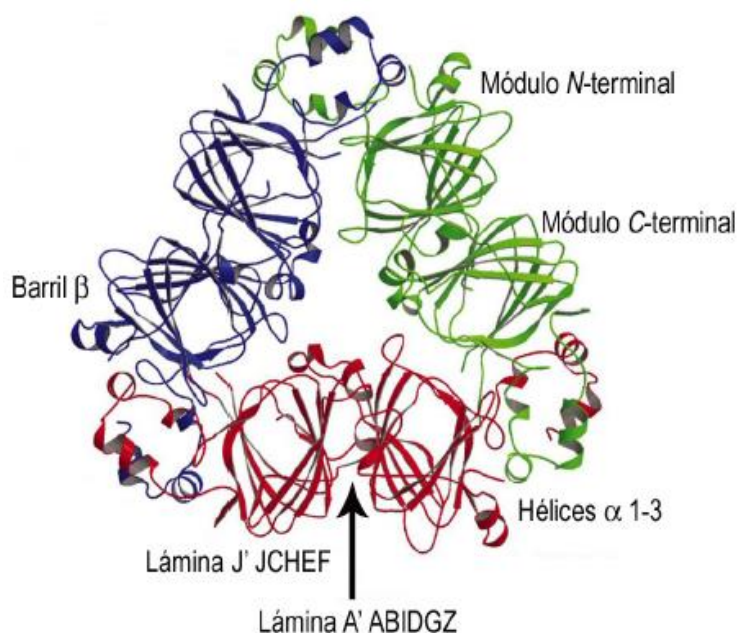


Figura 4.1 Estructura tridimensional de un homotrímero de  $\beta$ -conglicinina.

Fuente: Maruyama *et al.*, 2004.

identificado como péptidos derivados de la 7S o  $\beta$ -conglicinina (Liyanage *et al.*, 2008). La  $\beta$ -conglicinina es una glicoproteína compuesta por un trímero de peso molecular de entre 150-250 kDa y es producida en la semilla, su estructura tridimensional se muestra en la Figura 4.1 (Fu *et al.*, 2007). Por otra parte, la glicinina es un hexámero con peso molecular de 300-400 kDa, compuesto por péptidos ácidos y básicos y puede disociarse en las formas 2S,

3S o 7S a diferentes condiciones de pH y fuerzas iónicas (Hammond *et al.*, 2003).

La soya contiene 2 tipos de inhibidores de proteasas: Kunitz (IKT) y Bowman-Birk (IBB), éstos se encuentran asociados a las proteínas de almacenamiento de la semilla y representan alrededor del 6% de la proteína total. El IKT fue primero aislado y cristalizado por Kunitz extrayendo los componentes de la soya con agua e induciendo su precipitación con alcohol. Tiene un peso molecular entre 20 y 25 kDa, con una especificidad dirigida principalmente hacia la tripsina; el inhibidor ha mostrado que ejerce su acción a través de una relación estequiométrica, esto es, 1 mol de inhibidor inactiva 1 mol de tripsina. La secuencia de aas está conformada por 181 residuos y 2 enlaces disulfuro, con un sitio reactivo en los residuos Arg<sup>63</sup>-Ile<sup>64</sup>.

El IBB fue aislado mediante una extracción con una solución de alcohol al 60% y fue precipitado con acetona. Este inhibidor es un polipéptido que aparece 7 semanas después de la floración e incrementa con la madurez de la semilla, contiene 71 aas con un peso molecular de aproximadamente 8 kDa, incluyendo 7

enlaces disulfuro (Ver Figura 4.2). Es capaz de inhibir tanto a la tripsina como a la quimotripsina en sitios reactivos independientes, el sitio reactivo de la tripsina corresponde a los residuos Lys<sup>16</sup>-Ser<sup>17</sup>, mientras que el sitio reactivo de la quimotripsina es en los residuos Leu<sup>44</sup>-Ser<sup>45</sup> (Brandon y Friedman, 2002; Park *et al.*, 2005; Guo, 2009; Hernández-Ledesma *et al.*, 2009; Clemente *et al.*, 2010).

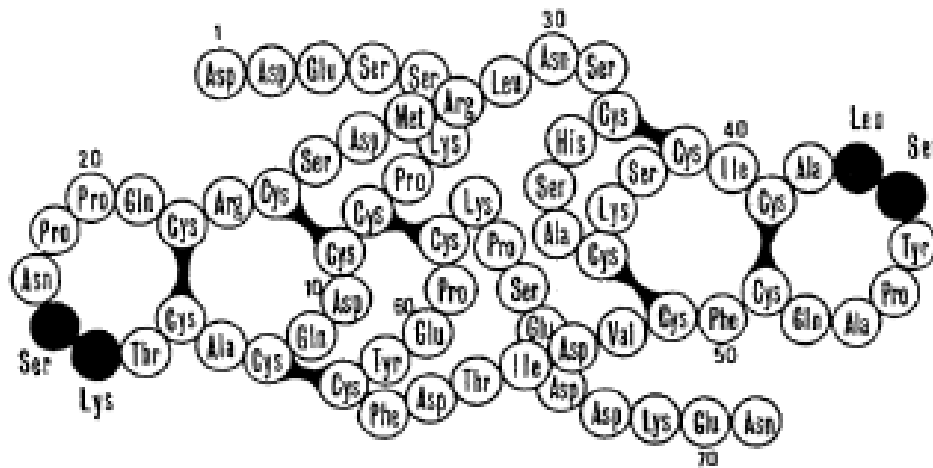


Figura 4.2 Estructura de la proteína IBB de la soja. Se destacan en negro los enlaces disulfuro que estabilizan la estructura y los aas que conforman los sitios de enlace con las proteasas tripsina y quimotripsina.

Fuente: Augustin y Muñoz, 2006; Losso, 2008.

Con respecto a la lunasina, ésta es un péptido que se descubrió en la soja y corresponde a la subunidad de la albúmina 2S específica del cotiledón, tiene un peso molecular de 5.5 kDa y su secuencia es de 43 aas, cuyo C-terminal contiene 9 residuos D-Asp (ácido aspártico: Asp, D), un motivo de adhesión celular Arg-Gly-Asp y una estructura homóloga a la región conservada de la proteína enlazante de cromatina. Aparece 5 semanas después de la floración y permanece en la semilla madura; su concentración en las diferentes variedades de soja se ve influida por el método de extracción, grado de madurez de la semilla, época de cosecha, condiciones ambientales durante el desarrollo o alguna manipulación genética (Jeong *et al.*, 2003; González *et al.*, 2004; Guo, 2009; Hernández-Ledesma *et al.*, 2010; Singh y Bisetty, 2012; Vizcardo y Zavala, 2016).

Hasta ahora, muchos estudios sobre la producción de PBAs derivados de las proteínas, por fermentación, se han enfocado en las BAL usadas en la producción

de alimentos lácteos y tipo lácteos (queso y/o yogurt) (Pihlanto y Korhonen, 2015). Las BAL constituyen un grupo de microorganismos Gram-positivos muy heterogéneo desde el punto de vista morfológico y fisiológico, cuya principal característica es la producción de ácido láctico como producto mayoritario del metabolismo fermentativo de los carbohidratos. El grupo de las BAL comprende microorganismos de 26 géneros distintos, entre los cuales se encuentran los del género *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Weisella*, entre otros (Stiles y Holzapel, 1997; Axelsson, 1998).

Varias enzimas proteolíticas diferentes han sido identificadas en las BAL, conformando lo que se conoce como “sistema proteolítico”, éste juega un papel esencial en la supervivencia y desarrollo de estos microorganismos en medios ricos en proteínas; posee una gran importancia desde el punto de vista tecnológico dado que contribuye de manera crucial al desarrollo de la textura, aromas y sabores de los productos lácteos y tipo lácteos fermentados, además de estar implicado en la liberación de PBAs. Se ha establecido que muchas BAL son multi-auxótrofas de aas, por lo que en alimentos donde la concentración de aas libres y péptidos es muy baja, todas ellas dependen de su sistema proteolítico para sobrevivir (Leroy y De Vuyst, 2004; Doeven *et al.*, 2005; Pihlanto y Korhonen, 2015).

El sistema proteolítico de las BAL se ha estudiado con gran detalle y algunas investigaciones se han enfocado en la producción de PBAs por acción específica de estas enzimas, durante el proceso de fermentación. Adicional a ello, se ha podido comprobar que los sistemas de lactococos y lactobacilos guardan una estrecha relación; sin embargo, el sistema proteolítico de *Streptococcus thermophilus* tiene diferencias específicas que lo han hecho un sistema de BAL de estudios particulares. En general, la degradación de las proteínas se inicia por la acción de una proteinasa ligada a la pared celular (PPC), lo que resulta en la liberación de un gran número de oligopéptidos. A continuación, estos oligopéptidos son transportados al interior de las BAL por sistemas específicos de transporte de péptidos. Por último, una vez dentro de las células, los péptidos son degradados

de nuevo por la acción conjunta y coordinada de varias peptidasas, dando lugar a péptidos de menor tamaño y a aas libres (Kunji *et al.*, 1996; Savijoki *et al.*, 2006).

La proteinasa extracelular, ligada a la pared celular, es una serina proteinasa monomérica que, en el caso de las especies de lactobacilos, presenta una estructura primaria de alrededor de 1946-1962 aas. Por otra parte, las especies de estreptococos han mostrado ser más activas en esta primera etapa de la proteólisis ya que sus requerimientos son mayores, por lo que la PPC de *Streptococcus thermophilus* es exclusiva de este microorganismo y sólo se activa cuando se encuentran en el medio concentraciones insuficientes de ácido glutámico (Glu, E) y Met. De igual manera, se ha observado que esta proteinasa es necesaria en los sistemas de protooperación, como en la elaboración del yogurt (Kunji *et al.*, 1996; Letrot y Juillard, 2001; Courtin *et al.*, 2002).

El segundo paso del sistema proteolítico se resume al transporte de aas y péptidos (di-, tri- y oligopéptidos) al interior de la célula a través de la membrana celular. En el caso de las BAL y particularmente en lactococos y lactobacilos, se han encontrado al menos 10 sistemas de transporte de aas que tienen alta especificidad por aas con estructuras similares. Estos sistemas están regulados por la hidrólisis de ATP, otros motivados por protones y uno es regulado por gradientes de concentración en un transporte pasivo. Los estudios de transporte de di- y tri-péptidos hidrofílicos han demostrado que el mecanismo está regulado por fuerzas de protones; en el caso de estreptococos, además de manejar el mecanismo protón-dependiente, se ha observado que hay un mecanismo reconocido para el transporte de glutamato, que no se ha encontrado en otras BAL. En estudios a nivel genético sobre el transporte de oligopéptidos, mediante un sistema compuesto por 5 proteínas ATP-dependientes, se ha sugerido que pueden ser transportadas al interior de la célula cadenas de hasta 10 aas. En contraste, el sistema de estreptococos es capaz de permitir la entrada de péptidos con cadenas de 3-23 aas, lo cual genera un sistema más complejo.

El fraccionamiento de los péptidos ingresados a la célula es realizado por las peptidasas intracelulares. Mediante varios estudios se han podido identificar ciertas enzimas participantes en el sistema de lactococos y lactobacilos, entre las



cuales se pueden mencionar: aminopeptidasa N (corta aas del N-terminal, su actividad está dirigida hacia oligopéptidos y es incapaz de cortar dipéptidos que contengan prolina (Pro, P)), aminopeptidasa C (tiene preferencia por dipéptidos que contienen alanina (Ala, A), Leu o Lys en posición N-terminal), tripeptidasas (identificadas sólo en *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, realizan la hidrólisis de Leu-Leu-Leu) y dipeptidasas (la dipeptidasa general es específica para dipéptidos con residuos hidrofóbicos en N-terminal y es nula para aquéllos que contienen Pro, Gly o Asp). En lo que respecta al sistema de *Streptococcus thermophilus*, se le han asociado 14 peptidasas diferentes, de las cuales sólo 5 son las más relevantes: PepX (específica para Pro), aminopeptidasa PepS (tiene gran afinidad por Arg o aas aromáticos en el extremo N-terminal), aminopeptidasa PepN (específica para aas hidrofóbicos en el extremo N-terminal y para péptidos pequeños de 4-6 aas), PepC (tiene especificidad para Cys y no es capaz de liberar residuos de Pro) y una aminopeptidasa específica para Lys y Leu (Gasson y De Vos, 1994; Kunji *et al.*, 1995; Niven *et al.*, 1995; Tan *et al.*, 1995; Kunji *et al.*, 1996; Rul y Monnet, 1997; Deutsch *et al.*, 2000; Motoshima *et al.*, 2003; Juille *et al.*, 2005; Savijoki *et al.*, 2006).

#### 4.2.2 Actividades biológicas de los PBAs

Los efectos beneficiosos a la salud asociados con algunos productos fermentados son, en parte, atribuidos a la liberación de PBAs durante el proceso de fermentación. Con base en esto, péptidos con diferentes bioactividades han sido identificados en varios alimentos fermentados lácteos o de tipo lácteo, tales como yogurt y kéfir (Pihlanto y Korhonen, 2015); en esta categoría de productos, los PBAs de origen vegetal más ampliamente conocidos son los provenientes de las semillas y la bebida de soya. Las actividades biológicas ejercidas por estos péptidos son diversas y entre ellas se incluyen principalmente la actividad anticancerígena, hipocolesterolémica, antihipertensiva, antioxidante, inmunomoduladora y antimicrobiana (Kuba *et al.*, 2003; Meisel, 2005; Nishizawa *et al.*, 2008; Pihlanto y Korhonen, 2015; Vizcardo y Zavala, 2016) (Ver Tabla 4.1). Si bien los PBAs presentan efectos menos potentes en comparación con ciertos fármacos, la probabilidad de que se acumulen en tejidos del cuerpo o que generen efectos secundarios graves es mínima (Vizcardo y Zavala, 2016).

Tabla 4.1 PBAs provenientes de las proteínas de soya y su actividad biológica

<b>Fragmentos de péptidos</b>	<b>Actividad fisiológica</b>	<b>Fuente de proteína</b>
Fracción de alto peso molecular	Hipocolesterolémica y anticancerígena	Proteínas de la soya
LPYPR	Hipocolesterolémica	Glicinina de la soya
MLPSYSPY	Anticancerígena	Proteínas de la soya
Fracción de péptido	Antihipertensiva a través de la inhibición de la ECA	Proteínas de la soya
MITLAIPVНКPGR	Estimulante de la fagocitosis	$\alpha$ -subunidad de $\beta$ -conglícinina
MITLAIPVN	Estimulante de la fagocitosis	$\alpha$ -subunidad de $\beta$ -conglícinina
MITL	Estimulante de la fagocitosis y protección contra la caída del cabello	$\alpha$ -subunidad de $\beta$ -conglícinina
HCQRPR	Estimulante de la fagocitosis	Subunidad A <sub>1a</sub> de la glicinina
QRPR	Estimulante de la fagocitosis	Subunidad A <sub>1a</sub> de la glicinina
VNPHDHQN	Antioxidante	$\beta$ -conglícinina
LVNPHDHQN	Antioxidante	$\beta$ -conglícinina
LLPHH	Antioxidante	$\beta$ -conglícinina
LLPHHADADY	Antioxidante	$\beta$ -conglícinina
VIPAGYP	Antioxidante	$\beta$ -conglícinina
LQSGDALRVPSGTTY	Antioxidante	$\beta$ -conglícinina

Fuente: Guo, 2009

\*ECA: Enzima Convertidora de la Angiotensina; Glutamina: Gln, Q; Asparagina: Asn, N

Un aspecto importante sobre los PBAs es que para que ejerzan su actividad tienen que alcanzar intactos el órgano diana en cuestión, es decir, ser resistentes durante la digestión del alimento (FitzGerald *et al.*, 2004). Esto hace referencia a la biodisponibilidad de los PBAs, lo que incluye la estabilidad de su actividad biológica, tanto en la matriz alimenticia donde fueron liberados o incorporados e *in vivo* en el organismo antes de ser absorbidos y transportados al sitio objetivo (Pihlanto y Korhonen, 2015). Con este fin, se debe evaluar la estabilidad a la digestión, su absorción y también es importante evaluar su distribución, metabolismo y excreción, a fin de establecer las propiedades de biodisponibilidad del péptido. Los modelos de digestión *in vitro* se han desarrollado como una alternativa adecuada y reproducible a los estudios *in vivo* para mimetizar los mecanismos complejos de la digestión; una regla básica en la simulación GI es conseguir la relación adecuada de complejidad técnica frente a la relevancia fisiológica, ya que siempre existirán parámetros que quedarán fuera del modelo, entre éstos: mecanismos hormonales, sistema inmune, microbiota, etc. Los modelos de simulación GI pueden clasificarse en estáticos y dinámicos, siendo estos últimos los más complejos ya que simulan cambios tanto físicos (vacía gástrica, absorción de nutrientes y movimientos peristálticos) como cambios químicos (modificación del pH y empleo de secreciones a lo largo del tiempo de digestión) (Foltz *et al.*, 2010).

Los PBAs en gran parte muestran un carácter hidrófobo y son resistentes a la hidrólisis en el TGI, pueden ser absorbidos en su forma intacta para desplegar su bioactividad localmente en el intestino o después de ingresar al sistema circulatorio (Murakami *et al.*, 2004; Chandan *et al.*, 2006). Los mecanismos a través de los cuales se produce la absorción y transporte de los péptidos al torrente circulatorio, son descritos brevemente en la Tabla 4.2 (León *et al.*, 2015). Sin embargo, en algunas ocasiones es necesario hacer uso de propiedades que faciliten este proceso, un ejemplo de ello son las emulsiones, las cuales se han utilizado durante mucho tiempo para mejorar la biodisponibilidad oral o promover la absorción de los péptidos y las proteínas a través de las superficies mucosas (Pihlanto y Korhonen, 2015).

Tabla 4.2 Posibles rutas para la absorción y transporte de péptidos al torrente circulatorio

<b>Ruta de transporte</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Características de los péptidos candidatos</b>
Ruta paracelular	Difusión a través de las uniones entre células por un proceso de difusión pasiva independiente de energía.	Grandes y solubles en agua
Difusión pasiva	Propagación a través de un proceso transcelular dependiente del gradiente de concentración.	Hidrofóbicos
Vía transportador	Salida de algunos péptidos del enterocito hacia la circulación portal a través de un transportador de péptidos localizado en la membrana basolateral intestinal.	Pequeños y resistentes a hidrólisis
Endocitosis	Unión de las moléculas a la célula para su absorción hacia el interior de ésta vía vesiculización.	Grandes y polares
Sistema linfático	Absorción de péptidos del espacio intersticial hacia el sistema linfático intestinal.	Altamente lipofílicos y demasiado grandes para ser absorbidos por la circulación portal

Fuente: León *et al.*, 2015.

La resistencia de la lunasina frente a las enzimas digestivas es uno de los resultados observados en el estudio sobre la biodisponibilidad de los PBAs derivados de la proteína de soja (Ver Figura 4.3). Estudios *in vivo* han demostrado que se hidroliza por la acción de la pepsina y pancreatina, sobreviviendo entre un 60-80% de la lunasina inicial cuando es sometida a una hidrólisis por un tiempo de 2 horas. Este resultado sugiere que existe alguna molécula que está protegiendo a la lunasina de la digestión; alguno de estos compuestos protectores

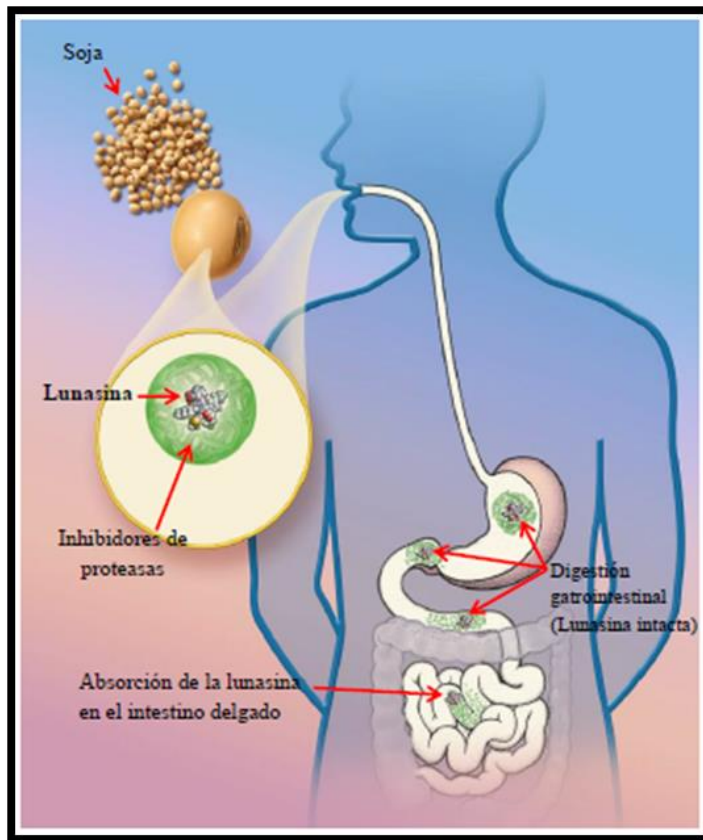


Figura 4.3 Protección de la lunasina por los inhibidores de proteasas frente a la acción de las enzimas digestivas.

Fuente: Park *et al.*, 2007.

podría ser el IBB, el cual, al tener 2 sitios inhibidores de proteasas, podría ser capaz de proteger a la lunasina de la digestión por pepsina y pancreatina. Por lo tanto, se ha sugerido la importancia de la proporción de lunasina: IBB durante la digestión (Park *et al.*, 2007; Hernández-Ledesma *et al.*, 2009; Hsieh *et al.*, 2010). También se ha descrito la absorción de lunasina en el organismo del ratón, observándose su distribución en diferentes tejidos, incluyendo pulmón, glándulas mamarias, próstata, cerebro, riñones e hígado; la lunasina extraída del hígado y de la sangre mantuvo su actividad (Hsieh *et al.*, 2010).

### Actividad anticancerígena

En los últimos años, las proteínas y péptidos derivados de la soja han focalizado mucho interés, dado sus resultados en la prevención de las diferentes etapas de

cáncer. En contraste con la mayoría de los fármacos de moléculas pequeñas y anticuerpos quimioterapéuticos, estos compuestos de naturaleza proteica de origen natural poseen gran afinidad por ciertos tipos celulares, tienen facilidad de penetración en los tejidos, cuentan con una fuerte especificidad por dianas celulares y muestran baja toxicidad (De Mejía y Día, 2010; Vizcardo y Zavala, 2016).

Diversos estudios han puesto de manifiesto el potencial de la lunasina como quimiopreventivo y/o agente quimioterapéutico. Inicialmente se demostró que la lunasina no tenía ningún efecto en la morfología ni en la proliferación de células en ausencia de carcinogénesis; sin embargo, era capaz de suprimir tanto la transformación química y viral, como aquella inducida por la oncogénesis en células mamarias. En los modelos celulares de cáncer de mama y colon, la lunasina ejerce efectos inhibidores de la acetilación de las histonas, bloqueadores del ciclo celular, inductores de apoptosis y moduladores de biomarcadores asociados al proceso de carcinogénesis (Lam *et al.*, 2003; Boo *et al.*, 2007; Hernández-Ledesma *et al.*, 2010).

Por otra parte, las proteínas IBB de la soya también han demostrado su eficacia como agente anticancerígeno en numerosos ensayos *in vitro*, modelos animales y estudios clínicos en humanos (Gran *et al.*, 2006). Como parte de esos estudios, se han obtenido otros fragmentos de péptidos, a los que se les atribuye un efecto inhibidor en la reabsorción de ácidos biliares en el intestino, los cuales son conocidos como un promotor intrínseco del cáncer de colon, de esta manera, se suprime la tumorigénesis en el hígado y colon de ratas.

#### Actividad hipocolesterolémica

Se ha encontrado que los fragmentos de péptidos hidrofóbicos de la soya son responsables de la acción reductora de colesterol en plasma. Su poder reductor radica en la buena capacidad que tienen para unirse a los ácidos biliares, incrementando la excreción fecal de éstos; en consecuencia, la síntesis de ácidos biliares en el hígado es estimulada, resultando en la reducción del colesterol sérico. Los principales péptidos con esta actividad provienen de las subunidades de glicinina; con base en esto, hallaron un péptido de bajo peso molecular (Leu-

Pro-Tyr-Pro-Arg) que fue capaz de reducir el colesterol sérico en ratones después de una administración oral, esto posiblemente bajo un mecanismo diferente al relacionado con los ácidos biliares (Guo, 2009).

La fracción 7S ( $\beta$ -conglucina) de la globulina de soya es otra que ha demostrado ser efectiva en la reducción de la concentración de colesterol plasmático en ratas; los hallazgos derivados de los estudios realizados hasta la fecha indican que tiene efectos beneficiosos en el metabolismo de las lipoproteínas y en la salud cardiovascular, mediante la regulación de la actividad de los receptores hepáticos LDL (Lovati *et al.*, 2000; Fu *et al.*, 2007).

### Actividad antihipertensiva

La actividad funcional mejor evaluada, asociada a los PBAs, es la relacionada con el control de la hipertensión arterial (López-Fandiño *et al.*, 2006); por ello, en los últimos años, la ciencia se ha enfocado en el estudio de alimentos como fuentes de péptidos con posibles efectos antihipertensivos. Estos péptidos nutricionales han recibido considerable atención por su efectividad tanto en la prevención como en el tratamiento de esta patología (Pihlanto y Korhonen, 2015).

La inhibición de la ECA es el mecanismo de acción más estudiado (Kim *et al.*, 2001). Esta enzima es una peptidil-dipeptidasa que en el sistema renina-angiotensina (SRA), uno de los mayores reguladores de la presión arterial y de control del sistema cardiovascular, actúa hidrolizando la angiotensina I para liberar la angiotensina II. Por tanto, la inhibición de la ECA origina un efecto hipotensor al evitar tanto la formación de la angiotensina II (vasoconstrictor), como la degradación de bradisininas (vasodilatadores) (Unger, 2002; Lavoie y Sigmund, 2003).

Muchos autores han estudiado la actividad antihipertensiva de los péptidos inhibidores de la ECA que son liberados en la soya fermentada con diferentes cepas de BAL (como *Lb. bulgaricus* y *Str. thermophilus*) bajo diferentes condiciones. Ha sido reportado que la reducción de la hipertensión por un producto de bebida de soya fermentada es contribuida principalmente por péptidos de 800-900 Da (Pihlanto y Korhonen, 2015). La actividad antihipertensiva *in vivo*

se evalúa habitualmente mediante la administración oral del péptido en ratas espontáneamente hipertensas (REH). Diversos estudios encaminados a determinar el modo de acción de estos péptidos pusieron de manifiesto que la presencia de residuos hidrofóbicos en cualquiera de las 3 últimas posiciones de su extremo C-terminal favorece la unión del péptido inhibidor al centro activo de la ECA (unión a un átomo de zinc) (Wei *et al.*, 1991; López-Fandiño *et al.*, 2006). De igual manera, la evidencia de los efectos beneficiosos ha sido basada en estudios realizados en humanos; varias posibles razones que explican la discrepancia en resultados de este tipo de estudios, podrían ser: talla (peso) de los sujetos estudiados, diferencias en la dieta habitual, los criterios de inclusión, la selección del producto control, la duración del periodo de intervención y los diferentes métodos usados en la medida de la presión sanguínea.

Para ejercer el efecto antihipertensivo, los péptidos inhibidores de la ECA necesitan resistir diferentes peptidasas, tal como la ECA. De acuerdo con esto, pueden ser clasificados en 3 grupos: el tipo inhibidor (su concentración inhibidora (CI) no es afectada por la pre-incubación con ECA), el tipo sustrato (péptidos que son hidrolizados por ECA para producir péptidos con una actividad más débil) y el tipo inhibidor pro-fármaco (péptidos que son convertidos a verdaderos inhibidores por la ECA u otras proteasas/peptidasas). Sólo los péptidos que llegan a ser del grupo 1 o grupo 3 ejercen propiedades antihipertensivas después de la administración oral (Pihlanto y Korhonen, 2015). Por lo tanto, las diferencias entre los resultados obtenidos *in vivo* y la actividad inhibidora de la ECA *in vitro* se deben a la afinidad de los péptidos al mecanismo de transporte a través de la barrera intestinal y a la resistencia a las peptidasas, tanto intestinales como sanguíneas (Saito *et al.*, 1994).

Aunque la inhibición de la ECA ha sido postulada como uno de los mecanismos que respalda la acción de los péptidos con actividad antihipertensiva, hay propuestas de otros mecanismos bajo estudios realizados en humanos; entre éstos, la liberación endotelial de factores que relajan el músculo liso vascular (como el óxido nítrico), la inhibición de la quimasa (enzima responsable de la formación de la angiotensina II en el corazón y en los vasos coronarios) y la acción de unos compuestos glicopeptídicos que mejoran la síntesis de las



prostaglandinas I<sub>2</sub> y reducen la resistencia vascular periférica (Urata *et al.*, 1993; Kuwabara *et al.*, 1995; Pihlanto y Korhonen, 2015).

### Actividad antioxidante

El estrés oxidativo es otro de los factores de riesgo de enfermedades degenerativas multifactoriales como las de tipo cardiovascular, el cáncer y desórdenes neurodegenerativos como Alzheimer y Parkinson. Esto es debido a que las especies reactivas al oxígeno (ROS) y otros RL pueden causar grandes daños a las macromoléculas biológicas como el ADN, las proteínas y los lípidos. Por lo tanto, el consumo de antioxidantes presentes en los alimentos es un remedio recomendable contra el estrés oxidativo (Fang *et al.*, 2002; León *et al.*, 2015).

La mayoría de los péptidos antioxidantes derivados de fuentes alimenticias tienen pesos moleculares que van desde 500-1800 Da, los aas que han mostrado tener una mayor actividad son los aas nucleófilos que contienen azufre y los aas aromáticos. En general, la actividad antioxidante se ha atribuido a ciertas secuencias de aas con altas cantidades de His y presencia de aas hidrofóbicos (como Val o Leu). Se cree que esta característica de los péptidos que contienen His está relacionada con la capacidad de este aa a donar hidrógeno y con la capacidad quelante de iones metálicos del grupo imidazol. La hidrofobicidad de los péptidos parece ser un factor importante para su actividad antioxidante debido a la mayor accesibilidad a grupos hidrofóbicos, como los ácidos grasos (Chen *et al.*, 1998; Suetsuna *et al.*, 2000; Peña-Ramos *et al.*, 2004; León *et al.*, 2015).

Los mecanismos implicados en dicha actividad son la inhibición de la peroxidación lipídica, la eliminación de RL, la inducción de ferritina, la quelación de metales y el mejoramiento de la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y de la superóxido dismutasa (SOD) (León *et al.*, 2015; Vizcardo y Zavala, 2016).

En un estudio realizado por un grupo de investigadores fueron aislados 6 péptidos antioxidantes, derivados de la  $\beta$ -conglucina, que fueron útiles contra la peroxidación del ácido linoleico. Estos péptidos se caracterizaron por presentar aas hidrofóbicos, como Val y Leu, en la posición N-terminal, y Pro, His o Tyr en las

secuencias (Guo, 2009). En otro trabajo también se aislaron 6 péptidos antioxidantes de los digeridos proteolíticos de la proteína de soya; se halló que el segmento His-His de uno de los péptidos, juega un papel principal en su actividad antioxidante. De hecho, los péptidos que contienen His son conocidos por ser antioxidantes. De igual manera se ha demostrado que la lunasina tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que podrían contribuir a su actividad quimiopreventiva (García-Nebot *et al.*, 2014). Una investigación enfocada en el estudio de kéfir elaborado a partir de bebida de soya, determinó que este producto posee actividades antimutagénica y antioxidante significativas y sugiere que la bebida de soya fermentada podría ser considerada entre los componentes alimenticios más prometedores, en términos de prevención de daño mutagénico y oxidativo (Pihlanto y Korhonen, 2015).

#### Actividad antimicrobiana e inmunoestimuladora

Los PBAs con propiedades antimicrobianas (PAM) e inmunoestimuladoras trabajan bajo los mecanismos de tipo inmune, perforación de membrana u otros; en lo que respecta a los péptidos con PAM, éstos tienen un amplio espectro de actividad, matando o neutralizando muchas bacterias Gram-negativas y Gram-positivas de una manera más rápida, incluso no se ven afectados por los mecanismos de resistencia a los antibióticos convencionales (Hancock, 2001; Vizcardo y Zavala, 2016).

Entre las PAM que se han encontrado en los péptidos de soya, específicamente en la conglucina, se incluye su capacidad de proveer el medio adecuado para la producción de enzimas intermediarias en el crecimiento de las bifidobacterias, disminuyendo marcadamente el pH fecal y, por lo tanto, generando la disminución de la población de *Escherichia coli* y *Enterococcus* (Wei-Yong *et al.*, 2005). Otro mecanismo que también hace referencia a las PAM de estos PBAs se fundamenta en el gran porcentaje de aas constituyentes básicos que están presentes, por lo que entre ellos forman un bucle en forma de  $\alpha$ -hélice en el extremo C-terminal, que provoca la formación de canales iónicos en la membrana de los microorganismos, alterando su permeabilidad y provocando la muerte celular (Clare *et al.*, 2003; Sato y Feix, 2006).

Se ha observado que péptidos contenidos en alimentos lácteos y tipo lácteos fermentados por BAL, pueden actuar como inmunoestimuladores debido a su afinidad por los receptores opiáceos presentes en las células T y en los leucocitos fagocíticos humanos (Clare y Swaisgood, 2000). A partir de las proteínas de soya fue aislado un péptido estimulante de la fagocitosis de los leucocitos polimorfonucleares humanos, éste fue derivado de la  $\alpha$  subunidad de  $\beta$ -conglucina y nombrado “soymétido”. En otro estudio se evaluaron los péptidos derivados de la subunidad A<sub>1a</sub> de la glicina, los cuales también estimularon la actividad fagocítica de los leucocitos, pero en un grado más débil que el del “soymétido” (Guo, 2009).

### Otras actividades biológicas

- Actividad antiulcerogénica

Una función clave del epitelio intestinal es actuar como barrera física entre el medio externo y el interno. La superficie intestinal está cubierta por una capa mucosa que juega un importante papel fisiológico que incluye la lubricación de la superficie celular, la defensa frente a la colonización por bacterias patógenas y la protección frente a las proteasas intestinales; los principales componentes del mucus son las mucinas (glicoproteínas de alto peso molecular). Cualquier situación experimental o patológica que cambie directa o indirectamente la cantidad de mucina, su estructura o el contenido acuoso o iónico va a provocar una alteración en la barrera mucosa. La úlcera gástrica, la colitis ulcerosa y el cáncer de colon son ejemplos de las consecuencias de un fallo en la expresión y/o composición del mucus intestinal (Moughan *et al.*, 2013; Jonckheere *et al.*, 2014).

Estudios recientes han demostrado que algunos componentes de la dieta pueden influir positivamente sobre las características del mucus intestinal. En relación con el fortalecimiento del moco, ciertos péptidos alimentarios han demostrado una actividad estimulante sobre la secreción de mucina intestinal que también podría contribuir a su efecto antiulceroso. En este sentido, existen evidencias que indican la potencialidad de las proteínas IBB en la prevención de colitis ulcerosa (Tanabe *et al.*, 2005; Augustin y Muñoz, 2006; Gran *et al.*, 2006).

- Actividad hipoglucemiante

Otro de los beneficios atribuidos a los PBAs contenidos en el yogurt de soya, se piensa que puede ser la actividad hipoglucemiante, pues como se sabe, la dieta a partir de la cual se pueden obtener péptidos hipoglucemiantes consiste en frutas, verduras, granos enteros, productos lácteos, frutos secos y leguminosas. Los mecanismos implicados en dicha actividad son la inhibición de dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV) y  $\alpha$ -glucosidasa, la translocación mediante el transportador de glucosa tipo 4 (GLUT-4), entre otros (Vizcardo y Zavala, 2016).

## **5. Tecnología de elaboración de los productos fermentados tradicionales de la soya y su concepto como alimentos funcionales**

### **5.1 Elaboración de los productos fermentados tradicionales de la soya**

La industria de alimentos cuenta con una gama de productos de soya diferentes en composición, color, sabor, eficiencia proteica, solubilidad, digestibilidad, granulometría, textura y muchas otras características, lo que permite una correcta selección de productos para obtener los atributos funcionales y nutricionales deseados. Actualmente la industria mexicana que procesa la soya ha crecido considerablemente, incluso ha incrementado la importación de este tipo de productos; especial atención han ganado los alimentos fermentados derivados de la soya, entre los cuales se incluyen el tempeh, miso, salsa de soya, natto y el tofu fermentado. Este tipo de productos tienen una variedad de aplicaciones que son resumidas en la Tabla 5.1 (Globitz, 1995).

Una de las categorías de los productos derivados de la soya son los alimentos fermentados tradicionales, los cuales en su aceptación más genérica son aquellos que son sometidos a la acción de microorganismos y, por lo tanto, experimentan cambios bioquímicos profundos que los hacen más digestibles, más nutritivos, más sabrosos y mejores, higiénicamente, que aquellos de los que proceden. La fermentación alimentaria es un sistema de conservación de alimentos eficaz y de bajo coste energético que prolonga su vida útil sin necesidad de aplicar costosos sistemas industriales. Hay escritos históricos que indican que la salsa de soya y el miso se elaboraban en China unos 1000 años a.C. y que alrededor del año 600 a.C. su tecnología de elaboración pasó a Japón (Globitz, 1995; Sanz *et al.*, 2007b).

Tabla 5.1 Aplicaciones de algunos alimentos fermentados de la soya

Producto fermentado de la soya	Aplicaciones
Salsa de soya	<p>Sazonador, aromatizante de platillos y sustituto de sal.</p> <p>Suele consumirse como dip y acompañamiento del sushi.</p> <p>Ideal para acompañar verduras fritas o en tempura, arroz, empanadas, aderezos, salsas, sopas, ensaladas, platos con todo tipo de carnes y pescados, especialmente para marinados y fritos.</p>
Miso	<p>Merienda para los niños.</p> <p>Condimento y aromatizante para dar sabor a sopas, salsas, aderezos, glaseados, ensaladas, marinados, patés, arroz, fideos, o untado en pan.</p> <p>Se añade a guisos de carne, pescado y algunas preparaciones culinarias, como son la sopa miso, encurtidos de miso, entre otros.</p>
Sufu	<p>Merienda y tentempié.</p> <p>Es consumido como guarnición, aperitivo y/o condimento en un desayuno con arroz, gachas o pan al vapor.</p> <p>Da sabor en una dieta insípida de arroz y vegetales.</p> <p>Puede ser cocinado con vegetales o carnes de la misma manera que un queso suave.</p>

Tabla 5.1 Aplicaciones de algunos alimentos fermentados de la soya (cont.)

Producto fermentado de la soya	Aplicaciones
Tofuyo	<p>Es un manjar recomendable para acompañar el sake (bebida alcohólica japonesa), tradicionalmente se come con palillos.</p> <p>También es consumido con awamori (licor destilado de Okinawa) para impartirle un gusto, untado en galletas o como pasteles servidos a la hora del té.</p> <p>Puede ser un ingrediente en la preparación del sushi.</p>
Tempeh	<p>Para platillos sofritos, a la parrilla, salteados, asados o al vapor, incluso es untable en pan.</p> <p>Puede agregarse en la preparación de carne de hamburguesa, pastel de carne, platillos con carne de res y cerdo. Representa una alternativa a la carne.</p> <p>Para elaborar salsas para pastas y combinado con tubérculos comestibles.</p>
Natto	<p>Comúnmente es consumido en el desayuno acompañado de arroz, salsa de soya, mostaza, huevo crudo y cebollines.</p> <p>Mezclado con condimentos, huevo, espagueti, arroz caliente y dashi (caldo de pescado muy utilizado en la cocina japonesa); su presentación también puede ser frita.</p> <p>Se agrega a diferentes platillos, como la sopa natto (natto con sopa miso y cubos de tofu).</p>

Fuentes: Globitz, 1995; Han *et al.*, 2001; Kiuchi, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011; Fernández, 2012; Han *et al.*, 2015.

En Asia se elaboran muchos productos alimenticios fermentados, así, en el subcontinente hindú, en los países del Sureste asiático y en China, Japón y Corea tienen una importancia extraordinaria los alimentos fermentados derivados de la soya, mientras que su demanda sigue creciendo en E.U y en la Unión Europea. Si bien una parte no despreciable de la producción asiática se realiza siguiendo una metodología tradicional y poco evolucionada, que se ha transmitido de generación en generación, actualmente se está utilizando la más moderna y avanzada tecnología, sobre todo en Japón, que ha sido y sigue siendo el país que más ha contribuido al conocimiento científico de los cambios microbiológicos y bioquímicos que acaecen en estas fermentaciones.

Atendiendo a la naturaleza de los sustratos fermentables, las fermentaciones son de 2 tipos: las que ocurren en alimentos líquidos y aquéllas que se dan en alimentos sólidos. Entre los productos fermentados de la soya, muchos de ellos son elaborados a partir de una fermentación fúngica simple o mixta (mohos y levaduras o mohos, levaduras y bacterias), seguida de salazón; algunos de ellos se muestran en la Tabla 5.2. Sin embargo, también existen otros productos en cuya elaboración intervienen 2 fermentaciones: una bacteriana llevada a cabo por BAL y otra fúngica a cargo de diversas especies de *Rhizopus*, *Mucor*, *Actinomucor elegans* y a veces, llega a colaborar *Neurospora sitophila* (Sanz *et al.*, 2007b).



Tabla 5.2 Alimentos de soya originados por fermentación fúngica simple o mixta seguida de salazón

<b>Sustrato</b>	<b>Producto final</b>	<b>Propiedades</b>	<b>Microorganismos</b>	<b>País(es) de origen</b>
Soya y trigo	Salsa de soya tipo shoyu	Aromatizante líquido	<i>Aspergillus oryzae</i> , bacterias, levaduras	Malasia y China
Soya	Sufu	Tofu fermentado	<i>Actinomucor elegans</i>	China
Soya	Hamma natto	Pasta salada	<i>Aspergillus oryzae</i>	Japón
Soya	Tauco	Pasta salada amarilla	<i>Aspergillus oryzae</i> , bacterias, levaduras.	Indonesia
Soya	Kochuyang	Pasta picante con pimienta	<i>Bacillus</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Rhizopus</i> , levaduras	Corea
Soya	Tau-si	Aromatizante líquido	<i>Aspergillus oryzae</i>	Filipinas
Soya y arroz	Miso	Pasta aromatizante	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Saccharomyces rouxii</i>	China y Japón
Soya negra	Ketyap	Pasta aromatizante	<i>Aspergillus oryzae</i>	Indonesia

Fuente: Sanz *et al.*, 2007b.

### 5.1.1 Salsa de soya

La salsa de soya es probablemente el condimento más antiguo preparado por el hombre y sin duda, es la salsa más conocida de la gastronomía asiática (Guo, 2009; Fernández, 2012). Aunque es originaria de China, donde se ha producido durante más de 2500 años, su aceptación fue muy grande en otros países orientales. Constituye el mejor ejemplo de alimento derivado de la soya, obtenido por fermentación fúngica seguida de salazón; al principio se elaboraba sólo con frijoles de soya enteras, pero actualmente se prefieren sus harinas y copos desgrasados (60%), a los que se adiciona un 40% en peso de trigo tostado y triturado.

Generalmente, es un líquido de color marrón oscuro, salado y con sabor a carne que se utiliza como aromatizante y con frecuencia, para condimentar muchos tipos de preparaciones culinarias, debido a que tiene un alto contenido de sal; además, este producto también aporta una mezcla compleja de sabores y umami (quinta sensación del sabor descrita como salada, completa y satisfactoriamente deliciosa) (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009). Sin embargo, este sazonador existe actualmente en una gran variedad de presentaciones, donde algunas pueden ser de un color muy ligero en tanto que otras pueden ser casi opacas; de la misma manera, los niveles de sal varían radicalmente de un país a otro e incluso de una región a otra (Globitz, 1995; ASA y USB, 2009). Es así como en el mundo existen muchos tipos diferentes de salsa de soya, puede decirse que casi cada país asiático produce algún tipo de salsa de soya. Los resultados pueden variar desde la tipo catsup muy dulce de Indonesia, hasta la salsa de soya con hongos picantes de China (ASA y USB, 2009). En relación con esto, es importante incidir en la diferencia que existe entre los distintos tipos de salsa de soya; por una parte, está el tamari, que es una salsa hecha exclusivamente con la semilla de la soya, y por otro lado el shoyu, la cual además de soya contiene trigo (Fernández, 2012).

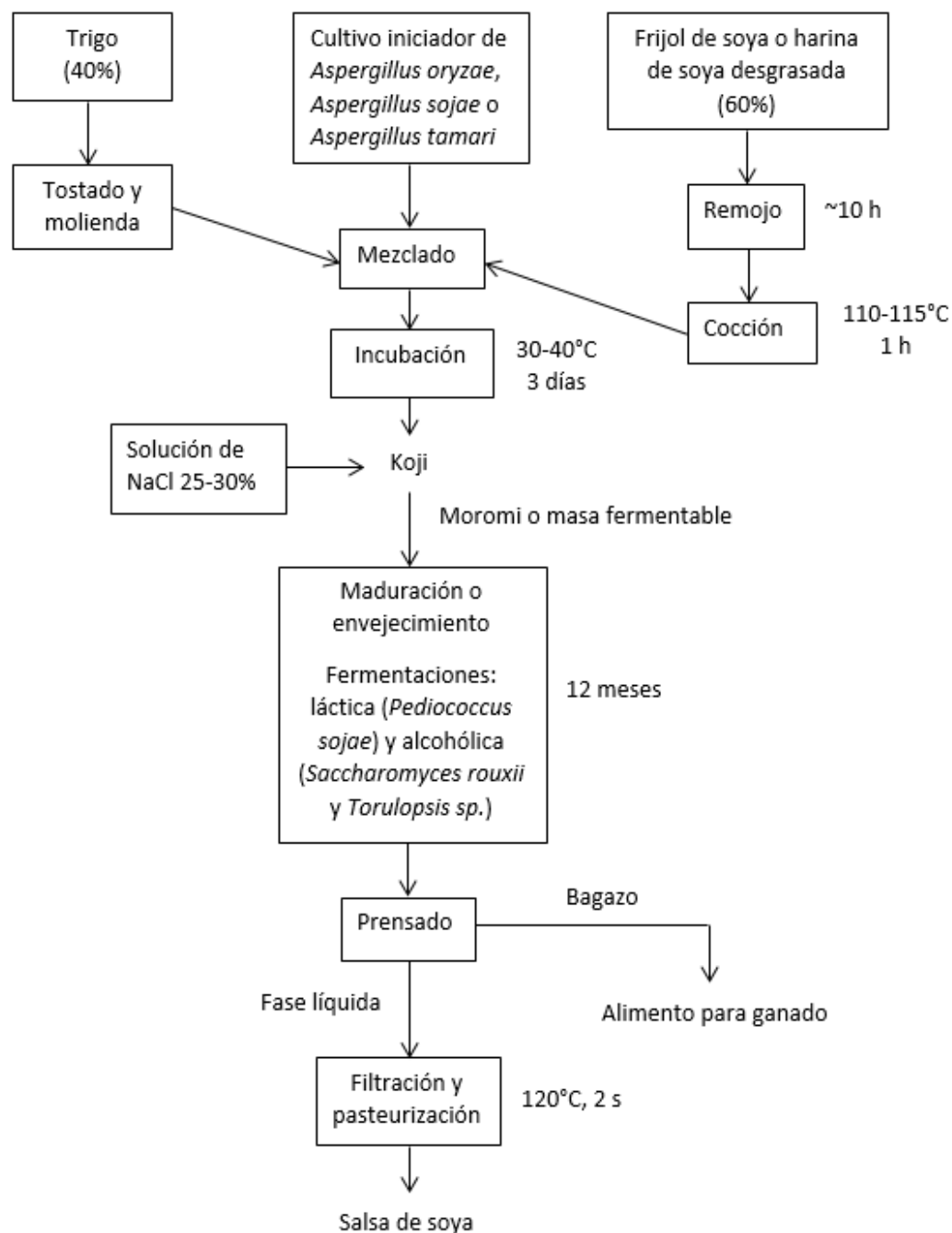


Figura 5.1 Proceso de elaboración de la salsa de soya tipo shoyu

Fuentes: Sanz *et al.*, 2007b; Guo, 2009; Fernández, 2012

Existen dos formas de elaborar la salsa de soya: fermentada naturalmente y sin fermentar. La salsa de soya fermentada naturalmente se refiere al método tradicional, requiere meses para su producción y tiene un sabor complejo; su tecnología de producción es mostrada en la Figura 5.1. Actualmente este proceso

no se utiliza para la elaboración de la salsa de soya que es comercializada en muchos supermercados del mundo; de hecho, en Japón sólo se elabora artesanalmente menos del 10% de la producción total y dentro de esta categoría destacan el shoyu y el tamari como las salsas más populares (ASA y USB, 2009; Guo, 2009; Fernández, 2012).

En el método tradicional, el proceso comienza con el lavado de los frijoles de soya en abundante agua y a continuación, se dejan a remojo unas 10-12 horas a temperatura ambiente, pero cambiando varias veces el agua; se escurren después y se someten a ebullición a temperaturas de 110-115°C durante una hora. Las condiciones de cocción ejercen gran influencia en la hidrólisis enzimática de la proteína de soya y ésta, a su vez, afecta al rendimiento de nitrógeno, que es máximo cuando las semillas son tratadas según las condiciones ya mencionadas. En el método industrial se prefieren temperaturas de cocción altas (120-125°C) y tiempos cortos (15 minutos). La inmersión en agua y la cocción a presión de las semillas persiguen facilitar la biodisponibilidad de factores de crecimiento, requeridos para el desarrollo de los microorganismos fermentadores, eliminar los que podrían alterar el producto terminado y destruir los factores antinutricionales de la soya. Sin embargo, la sobrecocción es perjudicial, ya que se forman enlaces intra e interpeptídicos que convierten su proteína en más resistente a la hidrólisis enzimática, con lo que disminuye la calidad del producto final.

Se ha comprobado que el tueste y trituración del trigo adicionado a los frijoles de soya mejora el aroma y el color de la salsa resultante y al mismo tiempo destruye los microorganismos superficiales que contaminan los granos, todo lo cual colabora a una mejor hidrólisis enzimática. Además, los componentes del trigo sirven de precursores de monosacáridos, ácidos y compuestos aromáticos. Una vez preparadas las semillas de soya y de trigo, como queda dicho, son mezcladas uniformemente (Sanz *et al.*, 2007b).

La mezcla de trigo-soya con un contenido de agua del 26% es luego inoculada con los iniciadores fúngicos *Aspergillus oryzae* y *Aspergillus sojae*, los cuales se encuentran contenidos en el koji, esto es, un volumen de salsa de soya proveniente de una elaboración previa, cuyas enzimas hidrolizan los componentes

de las semillas a sustancias más simples. Modernamente, en vez de emplear como iniciador el koji, se prefiere el tane-koji, el cual es cultivado directamente en la materia prima dejando que los mohos crezcan en toda la masa para recolectar las esporas que, debidamente desecadas y envasadas, se conservan a unos 12°C. Por lo tanto, la siembra puede realizarse con 0,1-0,2% en peso, de koji o tane-koji, procurando extenderlo lo más homogéneamente posible por toda la mezcla. A continuación, se distribuye en bandejas o cajas de madera de poco fondo, que se cubren con una tela humedecida y se llevan a la cámara de incubación, donde se dejan estar a 30°C por 24 horas y luego a 40°C por un tiempo adicional de 48 horas. Transcurridas las primeras 24 horas aproximadamente, en la superficie se va formando una capa delgada de micelio fúngico blanco, con el transcurso del tiempo el color del micelio pasa de blanco a amarillo y a verde oscuro; una vez que ya han pasado 72 horas se considera que la mezcla o koji ya está madura. A medida que aumenta el crecimiento fúngico, lo hace también la temperatura, por lo que, de no agitar y ventilar la mezcla de las bandejas, podrían alcanzarse y hasta superarse los 40°C. Durante la preparación del koji se originan, además de las enzimas clave, diversos compuestos químicos que son esenciales para la segunda fase del proceso fermentativo y otros que imparten los aromas característicos del producto terminado (Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009).

El koji se transfiere a tanques o cubas donde se le adiciona una solución de NaCl al 25-30%, esta mezcla constituye el moromi o masa de fermentación. Las concentraciones de NaCl que deben alcanzarse en el moromi son del 17-19%, a concentraciones menores del 16% puede originarse putrefacción.

La fermentación del moromi requiere mucho tiempo (8-12 meses), una agitación y aireación frecuentes, mantener una temperatura uniforme y facilitar la salida del CO<sub>2</sub> formado. Para completar la fermentación se necesita mucho tiempo, ya que tiene lugar a temperaturas más bajas; por ello, ante un proceso así de prolongado y tedioso se propuso una alternativa más factible, la cual a través de 6 meses lleva a la obtención de salsa de soya, respetando el proceso tradicional. Esta propuesta se desarrolla de la siguiente manera: mantener el moromi un mes a 15°C, subir a

continuación la temperatura a 28°C durante 4 meses y, finalmente, durante otros meses bajarla a 15°C (Sanz *et al.*, 2007b).

La fermentación es realizada por las hidrolasas extracelulares producidas por los microorganismos y consiste esencialmente en una hidrólisis enzimática de proteínas, carbohidratos y otros componentes de las semillas que rinden péptidos, azúcar-alcoholes y algunos otros compuestos de bajo peso molecular. En específico, durante la fermentación del moromi se desarrollan diversos microorganismos, entre los cuales predominan 2 géneros de BAL (*Lactobacillus* y *Pediococcus*) y algunas levaduras (*Hansenula* y *Saccharomyces rouxii*). Se ha comprobado que las levaduras del moromi sólo se desarrollan cuando el pH es igual o menor de 5; cuando es el óptimo, crecen exuberantemente y producen abundante CO<sub>2</sub>, lo que indica que está teniendo lugar la fermentación alcohólica. Finalizada la fermentación, el moromi es bastante resistente a los ataques microbianos ulteriores, debido a su salinidad, pH y contenido alcohólico que inhiben la actividad microbiana (Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009).

Cuando ha terminado por completo la fermentación o maduración, el moromi se prensa obteniéndose un líquido que es la salsa de soya, con un pH aproximadamente de 4.6, y un bagazo o resto sólido que se emplea como alimento para ganado. La salsa de soya es filtrada y a continuación es pasteurizada a 120°C durante 2 segundos para destruir la microbiota alterativa presente; se ha comprobado que este tratamiento también contribuye positivamente al desarrollo de su aroma característico. En el caso de las salsas de soya reducidas en sal, se les retira una porción de ésta antes de embotellarlas para su venta, etiquetándolas debidamente. En algunos lugares le incorporan como conservador ácido benzoico (0,1-0,15%) o bien, el éster butílico del ácido p-hidroxibenzoico (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009; Belitz *et al.*, 2009).

La composición química de la salsa de soya viene determinada por la de la materia prima utilizada (semillas enteras o harina/copos de soya desgrasados). En general, una salsa de soya de buena calidad debe tener un contenido de sal en torno al 18% y su pH estará comprendido entre 4,6 y 4,8; valores mayores indican una fermentación incompleta y valores menores, una acidez excesiva, debido

posiblemente al crecimiento de bacterias perjudiciales. La calidad comercial y el precio de la salsa de soya dependen del rendimiento nitrogenado (porcentaje de N de la materia prima convertido en N soluble), que es mejor mientras más eficaz es la conversión enzimática; a su vez, el N soluble total es una buena medida de la concentración de sustancias nitrogenadas presentes en el producto (Sanz *et al.*, 2007b). En relación con esto, la salsa de soya contiene 1,5% de N (del cual 60% corresponde al N proveniente de las proteínas) y 4.4% de azúcares reductores; las fracciones que contienen N se componen de 40-50% aas (el Glu predomina), 40-50% péptidos, 10-15% amoniaco y menos de 1% proteína. Además, la salsa de soya contiene subproductos del metabolismo de los microorganismos, tales como el etanol (1,2%) y ácidos láctico, succínico y acético (Belitz *et al.*, 2009).

### 5.1.2 Miso

Este fermento de soya de consistencia pastosa, también conocido como pasta de soya, es otro de los productos derivados que cada vez se encuentra más presente en las cocinas de todo el mundo; posiblemente es el más popular e importante del Lejano Oriente. Su origen es oriental y su técnica de elaboración es muy antigua; de hecho, es un alimento tradicional en Japón, con una historia que se remonta a unos 1300 años (Sanz *et al.*, 2007b; Guo, 2009; Fernández, 2012).

El miso tiene una consistencia cremosa y un aroma salado agradable que recuerda al de la salsa de soya, al igual que ésta, es rico en umami y tiene un complejo perfil de sabor. Sus características típicas se consiguen variando los cereales empleados para su elaboración, cambiando sus proporciones, modificando su contenido de sal, prolongando o acortando la fermentación e incluso incorporándole especias, en mayor o menor cantidad. Esta pasta salada es considerada como una preciada base para elaborar sopa y un ingrediente aromatizante muy utilizado en todo Japón, Corea, Taiwán, Indonesia y China; debido a sus altos niveles de sal, con frecuencia es sustituto de este condimento (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009; Guo, 2009).

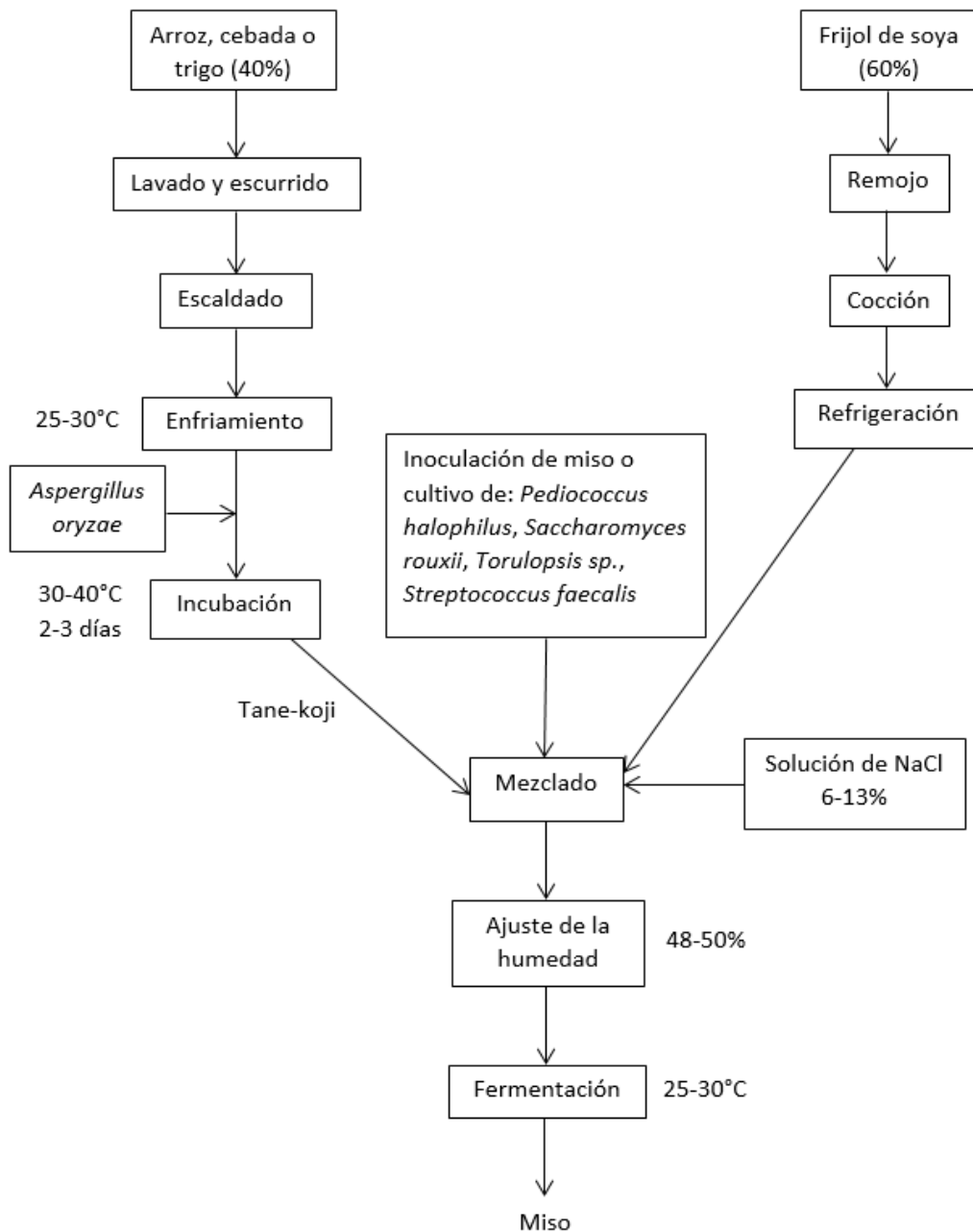


Figura 5.2 Proceso de elaboración del miso

Fuentes: Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009; Guo, 2009

Se distinguen 3 tipos de miso, dependiendo de la materia prima empleada como sustrato de fermentación:

- 1) Miso de arroz, elaborado con koji de arroz, semillas de soya cocidas y sal.
- 2) Miso de cebada, hecho de koji de cebada, semillas de soya cocidas y sal.
- 3) Miso de soya, elaborado con koji de semillas de soya y sal.



A su vez, estos tres tipos de miso se subdividen en varios grupos, atendiendo a su contenido de sal (dulce, medio y salado) y a su color, el cual normalmente varía del amarillo pálido al marrón rojizo. Por lo general, el miso de color más claro (en referencia al blanco) tendrá el sabor más dulce y suave; mientras que el miso de color oscuro (rojo o café) tiende a ser de sabor más completo y más salado (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009).

La elaboración del miso varía de unos países a otros y también de unas variedades a otras, pero su fundamento es el mismo en todos los casos; en la Figura 5.2 se representa su fabricación a través de un esquema. Como en el caso de la salsa de soya tipo shoyu, el miso se elabora a partir de semillas de soya y otros cereales (arroz, cebada o trigo) en una proporción de 60:40, respectivamente; por una parte, las semillas de soya, debidamente acondicionadas, se someten a cocción, mientras el otro cereal es escaldado e incubado con *A. oryzae* a 30-40°C por 40-50 horas, esto último con el fin de obtener tane-koji. Después se mezclan los 2 componentes y se incorpora una solución de NaCl al 6-13%. La mezcla es trasladada a un tanque de fermentación donde se deja fermentar tras la siembra del miso de una fabricación anterior o de los correspondientes microorganismos fermentadores del inóculo (*Pediococcus halophilus*, *Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis sp.*, *Streptococcus faecalis*); una vez que la humedad de la mezcla resultante, que en esta fase es conocida como “miso verde”, se ajusta al 48-50%, se permite la fermentación en el tanque a una temperatura de 25-30°C, esta etapa puede durar desde varios meses hasta 2 años. Con el fin de facilitar la fermentación, se sugiere que el miso verde sea transferido de un tanque a otro, al menos 2 veces; durante este tiempo, el miso pasa por muchas reacciones químicas a medida que los mohos, bacterias y levaduras crean nuevos compuestos llenos de sabor (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009; Belitz *et al.*, 2009; Fernández, 2012).

El miso es un producto que por lo general no está pasteurizado por lo que el último paso en su elaboración es el envasado para su venta. Antiguamente, se vendía en barriles de madera de cedro de muy diversos tamaños, ahora se utilizan bolsas y otros recipientes de polietileno o material multilaminar; este tipo de envasado requiere la pasteurización a 70-75°C durante 30 minutos para evitar el

abombamiento. Para mejorar la estabilidad algunos fabricantes le adicionan 1g de sorbato potásico/kg de miso (Globitz, 1995; Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009; Belitz *et al.*, 2009).

La composición química del miso varía mucho porque cambiando las proporciones de sus ingredientes se obtienen tipos con composición distinta; de acuerdo con esto, la humedad varía del 44-50%, la proteína del 8-19%, y la grasa del 2-10%. Salvo en el miso blanco y en los misos dulces, la concentración de sal supera el 10%; por ello, puede mantenerse mucho tiempo sin refrigeración, pero esto también limita mucho su empleo en la dieta (Sanz *et al.*, 2007b).

### 5.1.3 Sufu

Es un alimento tradicional chino fermentado que es obtenido a partir de la soya; consiste en un producto elaborado a partir del tofu o cuajada de bebida de soya. Se considera un producto altamente saborizado, suave y delicado, parecido a un queso, carente de fibra, con un alto contenido proteico (10%), aproximadamente un 4% de lípidos y un 80% de agua. En China se consume mucho como merienda y tentempié (Sanz *et al.*, 2007b; Han *et al.*, 2015).

Hay muchos tipos de sufu en China, los cuales son producidos por diferentes procesos en distintas localidades. De acuerdo a las tecnologías de proceso, pueden ser distinguidos 4 tipos de sufu, donde el producto base de todas es el tofu: fermentado con mohos, naturalmente fermentado, fermentado con bacterias y madurado enzimáticamente. Por otra parte, de acuerdo al color y al sabor, también puede ser clasificado en 4 tipos, los cuales se basan principalmente en los diferentes ingredientes utilizados para preparar la salmuera requerida en la etapa de maduración: rojo (color aportado por el arroz rojo fermentado), blanco, gris y otros tipos (adición de vegetales, arroz, tocino e incluso, altas concentraciones de alcohol). Otra clasificación puede ser con base en el tamaño (grande y pequeño), y en la forma (cuadrada y redonda). Generalmente, el tipo de sufu predominante en China es el elaborado con mohos (Han *et al.*, 2001; Han *et al.*, 2015; Xie *et al.*, 2018).

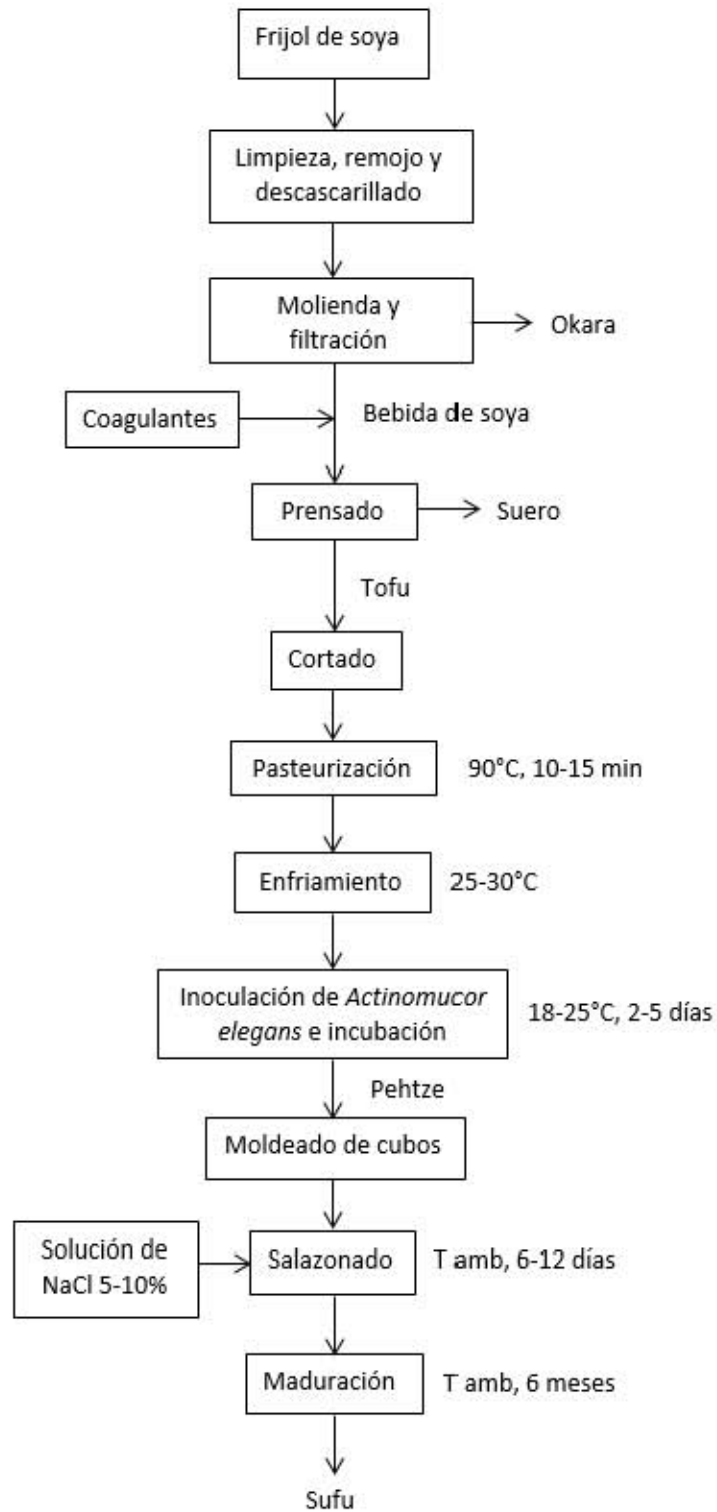


Figura 5.3 Proceso de elaboración del sufu

Fuentes: Han *et al.*, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2018.

La variedad de los tipos de sufu son producidos bajo un principio similar, ya sea partiendo de la bebida de soya recién preparada o del tofu, en su fabricación se pueden distinguir 4 etapas distintas (Han *et al.*, 2001; Sanz *et al.*, 2007b):

- 1) Obtención de la bebida de soya
- 2) Preparación de la cuajada o tofu
- 3) Elaboración del pehtze (siembra, fermentación y moldeado)
- 4) Salazonado y maduración

En la Figura 5.3 se muestra el diagrama de elaboración del sufu. La elaboración de la bebida de soya fue anteriormente explicada, por lo que la descripción de este proceso será a partir de la fabricación del tofu. Aunque hay bastantes diferencias en la metodología seguida para elaborar el tofu, el fundamento y las etapas básicas son las mismas que se siguen en el método tradicional de fabricación en China; una vez obtenida la bebida de soya, se añade un coagulante: nigari (cloruro de magnesio), sulfato de calcio deshidratado o glucono-delta-lactona, y se deja actuar 30 minutos aproximadamente para que coagule. Terminada la coagulación, se prensa el coágulo obtenido para eliminar el líquido (suero); en el método tradicional, el prensado puede realizarse con estameñas usando piedras o tabloncillos de madera que ayuden a ejercer presión sobre el producto coagulado (Han *et al.*, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009).

Una vez obtenida la cuajada de la bebida de soya (tofu), se corta en cubos pequeños con una longitud de borde que varía de 1-3 cm, esto depende del tamaño deseado. A continuación, los cubos son tratados durante una hora con una solución salina acidificada, compuesta por 6% NaCl y 2,5% ácido cítrico; posteriormente, son sujetos a un tratamiento de pasteurización (90°C, 10-15 minutos) para destruir los posibles microorganismos alterantes que pudieran contener y para disminuir su contenido acuoso. Los cubos así tratados, una vez que alcanzan los 25-30°C se inoculan con *Actinomucor elegans* y *Mucor sp.*, dejándolos fermentar de 18-25°C durante 2-5 días (Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009). Durante la fermentación, la proteína del frijol de soya es hidrolizada por los microorganismos siendo convertida en compuestos más pequeños que contienen N (péptidos de bajo peso molecular, aas y amoníaco), los cuales tienen impactos

significativos en las características organolépticas del sufu. Esta etapa del proceso no sólo mejora la digestibilidad y la biodisponibilidad, sino también elimina los componentes flatulentos, el sabor afrijolado y el gusto amargo; de la misma manera, hay componentes que pueden verse beneficiados por un incremento en su concentración, como pueden ser las isoflavonas, el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (AGAB), los fitoesteroles, las saponinas y los PBAs (Xie *et al.*, 2018).

Terminada la fermentación, el producto es conocido como “pehtze”, éste debe tener un micelio blanco o ligeramente amarillo para asegurar que el sufu tendrá una apariencia atractiva; la capa micelial del moho debe ser aplanada a mano, de esta manera una película firme se formará sobre su superficie para mantener la forma deseada. El siguiente paso es salazonar los cubos moldeados en una salmuera que generalmente está compuesta por una solución de NaCl al 5-10% y otros ingredientes, los cuales varían según el sabor deseado, las costumbres sociales, el clima, la ubicación, entre otros factores; una salmuera básica, adecuada y la más común para darle el sabor oriental característico de China, es la compuesta por 12% NaCl y vino de arroz con 10% alcohol, aunque también pueden ser añadidos otros elementos como el angkak (arroz rojo fermentado), azúcar, harina o pasta de frijol de soya, y especias. Durante el periodo de salazonado, el pehtze absorbe la sal hasta tener un contenido de aproximadamente 16%, lo cual toma 6-12 días. Después de esto, se prosigue a realizar la maduración a temperatura ambiente, el tiempo requerido dependerá de la salmuera utilizada, aunque generalmente esta etapa dura 6 meses para asegurar una mayor maduración; sin embargo, en los procesos modernos les toma un tiempo de 2-3 meses, lo cual puede lograrse haciendo unos cambios, tales como reducir el tamaño de los cubos de tofu, disminuir la concentración de sal y del contenido de alcohol, mantener una temperatura constante y usar tanques más pequeños. Las diferencias entre las variedades de sufu son principalmente causadas durante el proceso de maduración ya que se añaden diferentes mezclas de salmuera; por lo tanto, el gusto y el aroma del sufu, así como su suavidad característica pueden ser fácilmente mejorados o modificados por los ingredientes de la solución salina. Durante esta fase, los cubos de sufu

también experimentan proteólisis y lipólisis, así como formación de altos niveles de compuestos volátiles debido a la presencia de etanol.

Alcanzada la maduración deseada, el producto terminado se pone directamente a la venta o bien, se enlata y etiqueta debidamente para poder venderlo en lugares alejados de su sitio de producción (Han *et al.*, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2018).

Desde un punto de vista nutricional, el sufu tiene un contenido mayor de N proteico que otros alimentos orientales también derivados de la soya (Han *et al.*, 2015). A pesar de sus diferencias en el color y en el sabor, la mayoría de los tipos de sufu tienen una composición proximal similar. Con respecto al contenido de aas, Glu y Asp son los más abundantes en el sufu rojo y gris; el contenido de Cys y Met en el sufu gris es menor que en el rojo, esto debido a su degradación o conversión a otros compuestos de azufre durante la maduración, lo cual puede contribuir al desarrollo del característico olor repulsivo del sufu gris (Han *et al.*, 2001).

#### 5.1.4 Tofuyo

Es un alimento fermentado derivado de la soya que durante mucho tiempo se ha considerado un producto único, tradicional y local de Okinawa (Japón). Así como el sufu, es un tipo de tofu fermentado, pero con un sabor más complicado, el cual tiene cierta dulzura ya que es bajo en sal; la sensación en la boca es elástica, su textura es suave y su color normalmente es rojo, por lo que también puede ser conocido como “queso rojo de soya”. La mejor manera de comer tofuyo es colocar un cubo de éste en un plato pequeño y comerlo de a poco con palillos o un palillo, como acompañante del awamori (licor destilado elaborado en Okinawa). Recientemente se ha utilizado como ingrediente en el sushi, untado en galletas y de distintas maneras como aperitivo en los restaurantes. La gente solía hacerlo en casa, pero esto toma mucho tiempo, así que actualmente puede encontrarse en restaurantes especializados (Guo, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2011; Sakudo y Sesoko, 2013).

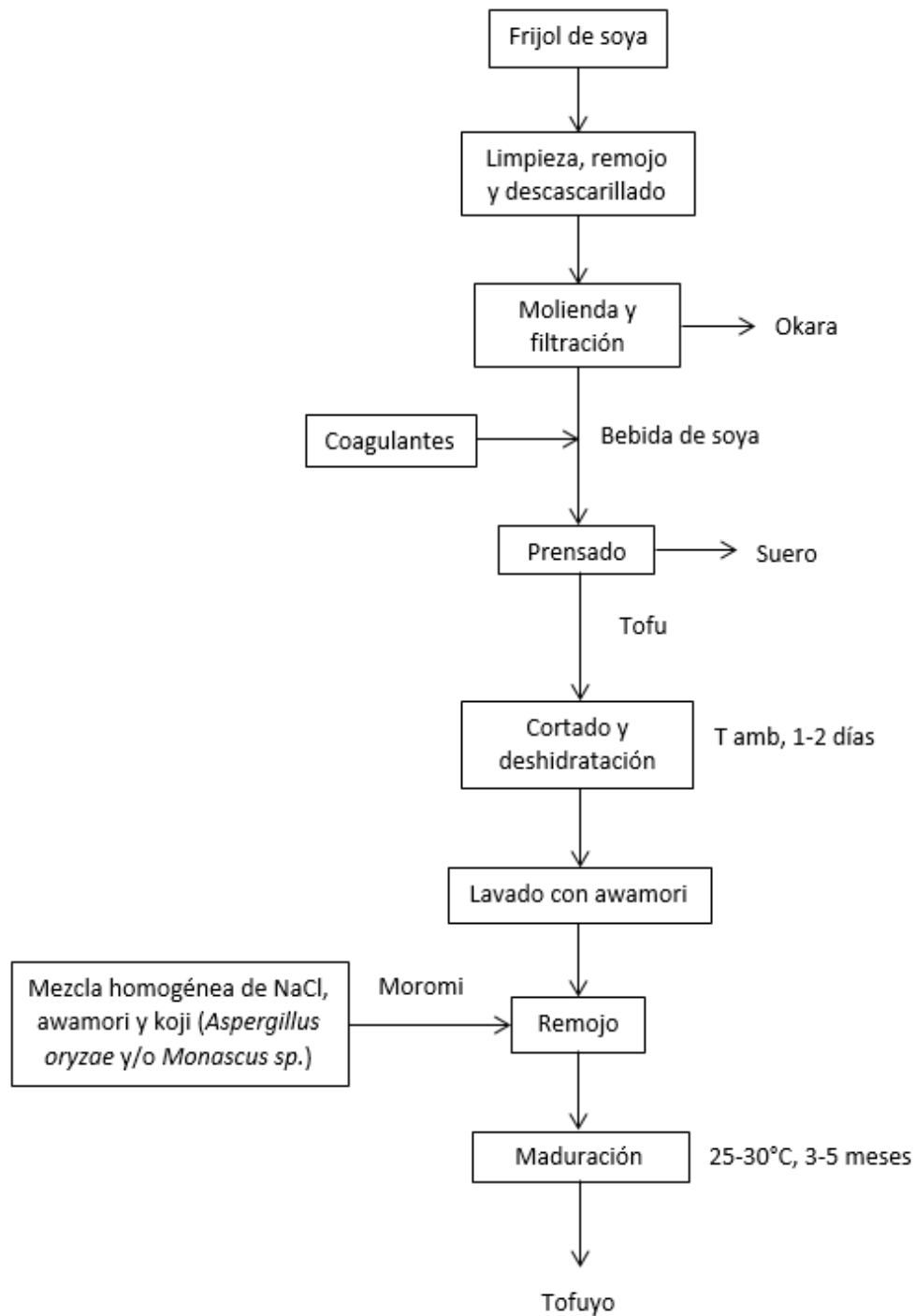


Figura 5.4 Proceso de elaboración del tofuyo

Fuentes: Guo, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011

El proceso de elaboración del tofuyo se puede resumir en 3 pasos: (1) preparación del tofu y deshidratación de los cubos de tofu, (2) elaboración del koji, y (3) remojo y maduración (Ver Figura 5.4). Se ha observado que la textura del tofu afecta la

calidad del tofuyo, por lo que es preferible que el contenido de agua del tofu usado sea menor que el del tofu regular; los factores que influyen son el tipo de coagulante usado y su concentración, así como la presión bajo la cual el coágulo es prensado para obtener el tofu. Una vez que ya ha sido fabricado el tofu, es cortado en cubos con una longitud de borde de 2-3 cm y si se desea, se agrega una pizca de sal sobre ellos para que a continuación las piezas sean deshidratadas bajo la sombra y a temperatura ambiente de 1-2 días hasta que se pongan viscosos. Las propiedades físicas de los cubos de tofu deshidratados son también factores importantes en la determinación de la calidad del tofuyo; si los cubos deshidratados son muy suaves, se desharán durante la maduración, pero si son demasiado duros, será difícil impartir un buen sabor y textura al producto final. Se cree que durante la deshidratación algunos microorganismos, como las bacterias, crecen sobre la superficie de los cubos y desarrollan sistemas proteolíticos y lipolíticos, por lo que juegan un papel importante en el proceso (Guo, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011).

Cuando el tofu se vuelve amarillento, el siguiente paso es lavar los cubos 2-3 veces con awamori. Posteriormente, se realiza un encurtido de los cubos con una mezcla de remojo (moromi); para esto, se elabora el koji a partir de arroz, proceso que también forma parte de la elaboración del miso. El koji que se prepara puede ser rojo o amarillo, dependiendo de esto se escoge el microorganismo y las condiciones; si se trata del koji rojo, la incubación suele ser a 32°C durante 7 días, usando *Monascus sp.* Mientras que para el koji amarillo, la incubación dura cerca de 2 días bajo la misma temperatura y usando *A. oryzae*. Para hacer el moromi, se requieren 3 elementos: el koji rojo o amarillo, el awamori (43% alcohol etílico) y una pequeña cantidad de sal, los cuales son mezclados homogéneamente, la mezcla resultante se mantiene a 4°C por 24-48 horas. Una vez hecho esto, los cubos se sumergen en el moromi y se dejan madurar a 25-30°C de 3-5 meses; esta etapa es enormemente afectada por la calidad del moromi, ya que influyen la variedad de koji y el licor que son usados para fabricarlo, por ello se ha indicado el uso específico de awamori debido al sabor característico que imparte al producto. De acuerdo con esto, las características del koji adecuado para elaborar tofuyo, se ha determinado que son las siguientes: tener alta actividad enzimática (proteínasa,



$\alpha$ -amilasa y glucoamilasa) y proporcionar un buen sabor al producto. El proceso de maduración del tofuyo es único, ya que sus proteínas sufren hidrólisis limitada por las proteinasas provenientes de la mezcla, lo cual es debido a la presencia de alcohol etílico y su concentración. En general, se ha revelado que el contenido de proteínas y de lípidos disminuye durante esta etapa, mientras que los azúcares reductores aumentan; sin embargo, especial atención tienen las proteínas, ya que se ha observado que algunos fragmentos de la conglucina y la subunidad ácida de la glicina desaparecen después de 3 meses de maduración, siendo la subunidad básica de la glicina la única que permanece. Esta etapa también está fuertemente correlacionada con el desarrollo del sabor umami, ya que éste se debe a los altos niveles de aas libres como Glu y Asp.

Con respecto a su empaque, se vende en una bolsa de plástico dentro de una caja del tamaño de un libro. Se ha sugerido que puede ser consumido después de un mes de su elaboración, pero parece ser que su mejor sabor es alcanzado después de 6 meses (Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011; Sakudo y Sesoko, 2013).

Es nutricionalmente un producto rico, ya que principalmente posee una alta calidad proteica, además de lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales (Yasuda, 2011; Sakudo y Sesoko, 2013). Los principales componentes del tofuyo son subunidades básicas de glicina, polipéptidos y aas (Glu, Asp, Ala y Pro), debido a la acción enzimática ejercida durante la maduración y posiblemente, parte de la deshidratación (Shurtleff y Aoyagi, 2011).

#### 5.1.5 Tempeh

Es un alimento fermentado de soya y fue originado en Indonesia, donde todavía es el producto de soya más popular y es parte de la cocina tradicional. Se caracteriza por su buen sabor, textura y versatilidad; además, carece del llamado “sabor afrijolado”, característico de las semillas de soya y de otras leguminosas. Es un producto singular que es obtenido por doble fermentación: primero láctica bacteriana y después fúngica, el cual es un proceso que hace que los frijoles de soya se entretrejan uniéndose sólidamente y formando una masa de textura correosa y densa. El tempeh en estado crudo posee un olor mohoso agradable; cortado en lonchas y frito presenta un aroma muy apetitoso, que recuerda al de los

frutos secos. Para ser incluido en preparaciones culinarias, debe cocerse a fuego lento en agua durante unos 20 minutos antes de cocinarlo; este proceso de escalfado retira un amargor ligero y lo suaviza. Otra de sus aplicaciones es que puede ser fácilmente usado como una alternativa a la carne debido a su textura masticable y su sabor distinto; por lo tanto, una amplia variedad de análogos de carne a base de tempeh están disponibles en el mercado (Globitz, 1995; Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009; Guo, 2009).

Tabla 5.3 Variedades de tempeh elaborado a partir de soya

<b>Materia prima</b>	<b>Producto</b>	<b>Moho responsable</b>
Frijoles de soya	Tempeh kedele	<i>Rhizopus sp.</i>
Torta de piel de frijol de soya	Tempeh matakedele	<i>Rhizopus sp.</i>
Semillas de soya (residuos de elaboración del tofu)	Tempeh gembus	<i>Rhizopus sp.</i>

Fuente: Sanz *et al.*, 2007b.

De la misma manera que otros alimentos fermentados de soya, hay muchos tipos de tempeh. Aquel elaborado exclusivamente a partir de frijol de soya tiene el sabor más marcado y puede variar según la materia prima que se ocupe (Ver Tabla 5.3); de éstos, el tempeh kedele es la variedad más antigua. Otros tipos de tempeh combinan el frijol de soya con ingredientes como los vegetales, arroz silvestre, arroz regular y otros granos (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009).

Hay 2 métodos distintos para fabricar tempeh: el tradicional y el industrial, en la Figura 5.5 se esquematiza su elaboración sin hacer referencia a alguno en específico. El proceso comienza lavando las semillas y posteriormente, dejándolas en remojo de 12-16 horas a temperatura ambiente; si se desea, como parte de esta etapa se puede aplicar una cocción a fuego lento con el fin de facilitar la remoción de las cáscaras. El tiempo destinado al remojo sirve para que se desarrollen las BAL que poseen y que proceden del entorno. Una vez transcurrido el tiempo, se escurre toda el agua y se pelan los frijoles de soya desechando la

piel o empleándola como alimento de las aves de granja; en dado caso de que las semillas se hayan cocido, será necesario dejar que se enfríen a una temperatura aproximada de 35°C, antes de continuar con el proceso. La parte resultante del descascarillado son los cotiledones, los cuales se inoculan o siembran con pequeñas porciones de tempeh bien desmenuzadas, procedentes de una fabricación anterior; en otras ocasiones se emplean como inóculo las envolturas de una partida de tempeh elaborado previamente o incluso añadiéndoles un cultivo iniciador comercial (*Rhizopus oligosporus*) conocido como “ragi tempeh”. Después de que los cotiledones son inoculados, se envuelven muy apretados moldeando el empaque en forma de ladrillo, esto tradicionalmente lo hacen con hojas de plátano o paja de arroz, y se dejan fermentar en un lugar templado durante 1 o 2 días.

Durante este tiempo desarrolla un sabor a nuez, mohoso y a champiñones; además, un moho blanco penetra a través de la torta que se está formando, siendo el aglutinante que mantiene a los frijoles de soya juntos, por acción del micelio. Se ha planteado que durante la fermentación fúngica debe alcanzarse un pH de 4-5 para impedir el desarrollo de microorganismos alterantes, sin embargo,

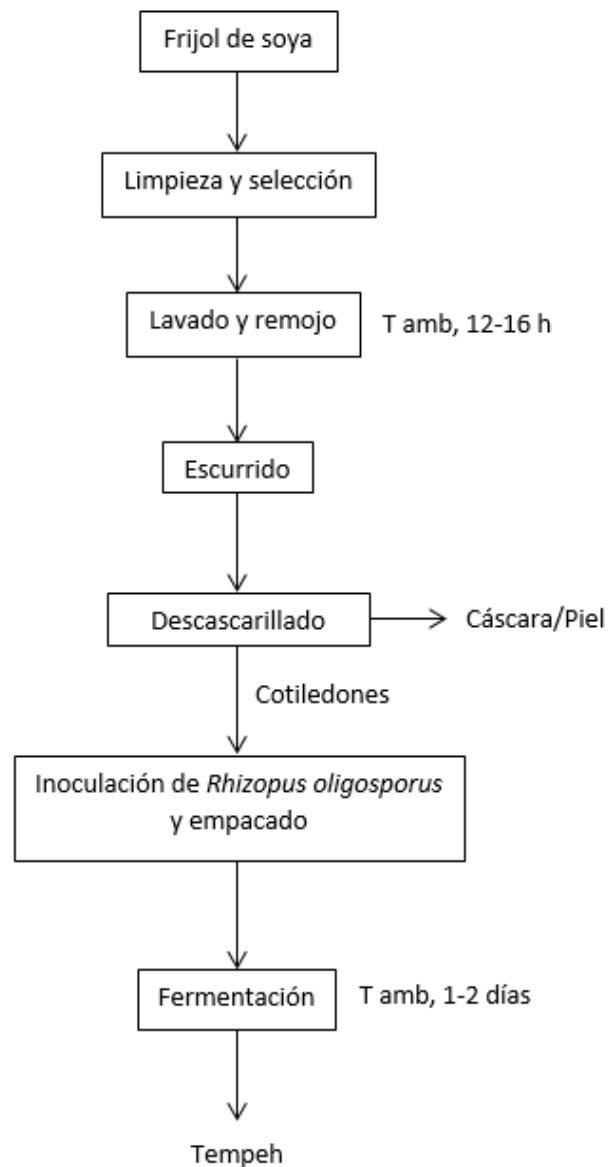


Figura 5.5 Proceso de elaboración del tempeh

Fuentes: Globitz, 1995; Sanz *et al.*, 2007b; Guo, 2009.

posiblemente esto no es necesario ya que *R. oligosporus* reúne algunas características que evitan este inconveniente: produce una sustancia antibacteriana y crece rápidamente, por lo que las bacterias alterantes tienen pocas oportunidades de desarrollarse antes de que se haya completado la fermentación (Sanz *et al.*, 2007b; ASA y USB, 2009; Guo, 2009).

Cuando se termina el proceso de fermentación, el tempeh se empaca para su venta y una vez adquirido, se refrigera hasta que se vaya a usar, teniendo un tiempo aproximado de conservación de unos 10 días; además, tiene la ventaja de que puede congelarse y mantenerse estable durante meses. El tempeh es un producto que no se pasteuriza, de modo que el moho continúa creciendo con el paso del tiempo hasta observar la aparición de pequeños puntos oscuros sobre la superficie, lo que es indicativo de que se ha llegado a un tempeh bien añejado; estos puntos pueden retirarse, si se desea, o dejarse y disfrutarse como parte de una rica experiencia. Si el tempeh es demasiado viejo, olerá a amoníaco y deberá desecharse (ASA y USB, 2009; Guo, 2009; Fernández, 2012).

Con respecto al valor nutricional del tempeh, es un alimento con un alto aporte proteico, aproximadamente contiene un 19,5% de proteínas de gran valor biológico; también es una buena fuente de calcio, vitaminas del complejo B y hierro. Su aporte graso es menor del 8% y, además, contiene una gran cantidad de fibra dietética, por lo que es considerado un alimento integral (Aranceta *et al.*, 2012; Fernández, 2012).

#### 5.1.6 Natto

Es un producto derivado de la soya, donde las bacterias predominan durante la fermentación; fue originado en la parte norte de Japón hace unos 1000 años, por lo que es un producto tradicional de esa región que ha sido difundido a otras partes del mundo, principalmente del Oriente. El natto que es preparado adecuadamente tiene una apariencia viscosa, su color varía de gris a marrón, el sabor es dulce e intenso, y tiene un aroma característico debido al amoníaco originado durante su elaboración; son estas características las que permiten al natto ser diferenciado de otros alimentos (Kiuchi, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Guo, 2009). La mayoría de la gente consume el natto mezclándolo con condimentos,

huevo y arroz caliente; es un producto que forma parte de una variedad de platillos orientales, como la sopa natto (Kiuchi, 2001).

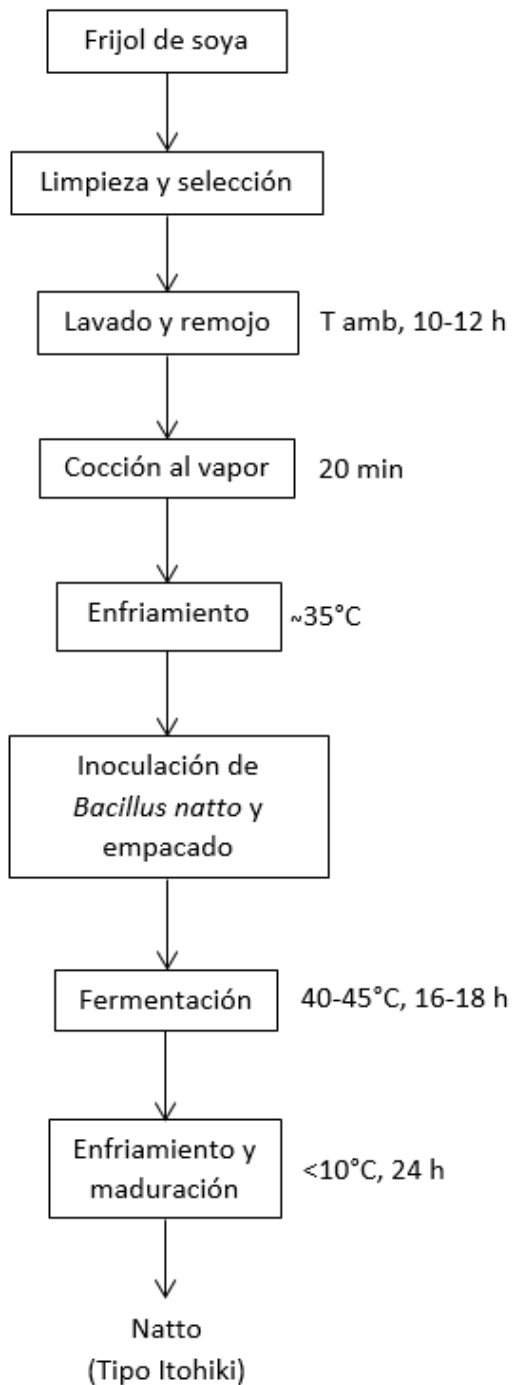


Figura 5.6 Proceso de elaboración del natto variedad itohiki

Fuentes: Kiuchi, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009; Guo, 2009.

Varios tipos de natto son conocidos, las 2 principales variedades son itohiki-natto (natto pegajoso) y shiokara-natto o frijol de soya negro fermentado (natto salado), de las cuales el tipo itohiki es el más consumido, por lo que suele hacerse referencia a éste cuando se habla del natto. La producción de esta variedad se esquematiza en la Figura 5.6 y consiste en un proceso relativamente simple. Para su elaboración se emplean semillas enteras de soya, las cuales son remojadas en agua por un tiempo de 10-12 horas a temperatura ambiente; posteriormente son cocidas al vapor durante 20 minutos, y luego se dejan enfriar hasta que la temperatura sea cercana a los 35°C. A continuación, los frijoles de soya son inoculados con el microorganismo iniciador responsable de la fermentación: *Bacillus natto*, el cual es una estirpe de *Bacillus subtilis* fijadora de N que contamina de forma natural la paja de arroz; por lo tanto, en la elaboración tradicional, este paso se realiza mediante el empacado de las semillas de soya (aproximadamente 500g/ paquete) usando paja de arroz

como envoltura, y luego se permite su fermentación a una temperatura de 40-45°C durante 16-18 horas. En los métodos japoneses modernos se emplean, como agentes fermentadores, cultivos iniciadores puros, en vez de los bacilos presentes de manera natural en la paja de arroz; al realizar este cambio, se emplean temperaturas de incubación de 36-40°C, bajo las cuales la fermentación acaece en unas 6 horas. Durante la fermentación, las semillas enteras se cubren de una capa mucilaginoso, bastante pegajosa y viscosa, la cual se compone de glicopéptidos ácidos y es producida por *B. natto*; por ello, es considerada un indicativo de buena calidad. Otro cambio ocurrido durante la fermentación, debido a las amilasas y proteasas producidas por *B. natto*, es la transformación parcial de las proteínas de la soya en amidas, peptonas, guanina, xantina y Tyr, incluso puede llegar hasta la formación de amoníaco si no se frena la hidrólisis; por lo tanto, esta acción enzimática no sólo permite el ablandamiento de los frijoles de soya, sino que además imparte el sabor al producto final, por lo que se recomienda no prolongar la fermentación para que el producto no resulte incomible y excesivamente rico en amoníaco (Kiuchi, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Belitz *et al.*, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2012a, b). El trabajo de *B. natto* también incluye su capacidad para impedir el crecimiento de otros microorganismos, esto es posible mediante la producción de ácido dipicolínico a concentraciones de 0,3-0,8%, de esta manera el producto terminado no se ve alterado por la proliferación de otras bacterias (Shurtleff y Aoyagi, 2012a).

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, el siguiente paso es permitir que se lleve a cabo la maduración durante 24 horas y a bajas temperaturas (<10°C); esta etapa es importante realizarla para potenciar más las características organolépticas del natto. Finalmente, el producto es envasado para su venta; en los tiempos en los que la producción era a pequeña escala, el natto era empacado en contenedores hechos de paja, sin embargo, el disgusto de los consumidores por este material como envoltura, desarrolló un método simple y de bajo costo para empacar, incubar y venderlo contenido en pequeñas cajas con revestimiento de madera afeitada de pino o cedro. Hoy en día es usualmente vendido en charolas de poliestireno o tazas de papel; aunque tiene una vida de anaquel que no supera la semana, debido a su bajo contenido de sal, su escasa acidez y la

falta de alcohol, la mayoría del natto se vende dentro de 2-3 días de producción (Kiuchi, 2001; Sanz *et al.*, 2007b; Shurtleff y Aoyagi, 2012a, b).

Es un alimento completo y natural con una composición promedio de 62% agua, 19% proteína, 8% lípidos, 6% carbohidratos, 3% fibra y 2% cenizas. Se considera un alimento altamente nutritivo ya que se digiere más fácilmente que la soya sin fermentar, contiene proteínas de alto valor biológico, minerales (calcio, fósforo, hierro y otros), isoflavonas y es rico en vitaminas K2, B2 y en menor proporción, B12. Sin embargo, el interés de su valor nutritivo viene dado por el elevado contenido de vitamina K2, de la cual la menaquinona-7 es su forma más predominante, y por la presencia de una enzima fibrinolítica sintetizada por *B. natto* y conocida como “natoquinasa”; la acción de esta enzima es 4 veces mayor que la ejercida por la plasmina (Piñeiro, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2012a, b).

## **5.2 Componentes bioactivos de los productos fermentados tradicionales de la soya y sus beneficios a la salud del consumidor**

Los alimentos fermentados que se derivan de la soya han sido consumidos en los países asiáticos durante mucho tiempo y por ello, son productos tradicionales en sus regiones de origen. La difusión de este tipo de alimentos a otras partes del mundo ha llevado a que su popularidad aumente, como últimamente se ha observado en varios países occidentales, lo cual puede deberse a sus excelentes atributos nutricionales; sin embargo, se piensa que el principal responsable de este incremento del consumo es su asociación con beneficios a la salud en una variedad de áreas (Ridner, 2006a). La mayor parte de los estudios realizados están relacionados con el consumo de productos de soya y sus isoflavonas, pero también se reconoce que hay otros componentes activos que podrían contribuir positivamente, como las proteínas, péptidos, oligosacáridos, ácidos grasos insaturados y saponinas; la presencia de dichos componentes define las propiedades funcionales del producto y depende de la tecnología de proceso aplicada (Shin *et al.*, 2007). La Tabla 5.4 resume los beneficios proporcionados por algunos alimentos fermentados de la soya.

Tabla 5.4 Beneficios a la salud por el consumo de algunos productos fermentados de la soya

<b>Alimento fermentado de la soya</b>	<b>Beneficios a la salud</b>
Salsa de soya	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tratamiento para trastornos digestivos</li> <li>✓ Mejora la absorción de minerales como el hierro (efecto antianémico)</li> <li>✓ Efectos anticancerígeno, antimicrobiano, antioxidante y antiplaquetario</li> <li>✓ Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y prevención de ataques cardíacos</li> <li>✓ Tratamiento de la rinitis alérgica</li> <li>✓ Prevención de osteoporosis</li> <li>✓ Disminución de los síntomas de la menopausia</li> </ul>
Miso	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tratamiento para trastornos digestivos</li> <li>✓ Tratamiento dermatológico y capilar para cabello</li> <li>✓ Efectos anticlastogénico y antimutagénico (prevención de cáncer)</li> <li>✓ Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y prevención de ataques cardíacos</li> <li>✓ Actividad inmunoestimuladora</li> <li>✓ Propiedades antioxidantes</li> <li>✓ Disminución de los síntomas de la menopausia</li> </ul>
Sufu	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y prevención de ataques cardíacos</li> <li>✓ Prevención de cáncer</li> <li>✓ Prevención de osteoporosis</li> <li>✓ Tratamiento para trastornos digestivos</li> <li>✓ Disminución de los síntomas de la menopausia</li> <li>✓ Propiedades antioxidantes</li> <li>✓ Mejora el funcionamiento cerebral</li> </ul>



Tabla 5.4 Beneficios a la salud por el consumo de algunos productos fermentados de la soya (cont.)

Alimento fermentado de la soya	Beneficios a la salud
Tofuyo	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y prevención de ataques cardíacos</li> <li>✓ Tratamiento para desórdenes digestivos</li> <li>✓ Propiedades antioxidantes</li> <li>✓ Actividad inmunoestimuladora</li> <li>✓ Tratamiento para la obesidad</li> <li>✓ Mejora el funcionamiento cerebral</li> <li>✓ Disminución de los síntomas de la menopausia</li> </ul>
Tempeh	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y prevención de ataques cardíacos</li> <li>✓ Prevención de osteoporosis</li> <li>✓ Prevención de cáncer</li> <li>✓ Tratamiento para trastornos digestivos</li> <li>✓ Tratamiento para la obesidad</li> <li>✓ Disminución de los síntomas de la menopausia</li> <li>✓ Favorable para el riñón</li> <li>✓ Propiedades antioxidantes y antimicrobianas</li> </ul>
Natto	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tratamiento y prevención de osteoporosis</li> <li>✓ Tratamiento de la diabetes</li> <li>✓ Reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y prevención de ataques cardíacos</li> <li>✓ Tratamiento del Alzheimer (alivia los síntomas)</li> <li>✓ Tratamiento para trastornos digestivos</li> <li>✓ Tratamiento para la obesidad</li> <li>✓ Prevención de cáncer</li> <li>✓ Propiedades antioxidantes</li> </ul>

Fuentes: Nout y Kiers, 2004; Kobayashi *et al.*, 2006; Liu, 2008; Dinesh *et al.*, 2009; Piñeiro, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011; Fernández, 2012; Mizukami, 2012; Torres, 2012; Sakudo y Sesoko, 2013; Mira, 2014; Hasim *et al.*, 2015; DESN, 2016; Cuesta, 2018; Link, 2018; Xie *et al.*, 2018.

## Salsa de soya

La tradicional salsa de soya ha sido reconocida no sólo como un condimento o conservador, sino que además de eso se ha comprobado que su consumo permite llevar una vida más saludable. Muchas de sus propiedades se le atribuyen a su contenido y calidad de proteínas, así como la presencia de isoflavonas. En China se le ha llegado a considerar como un reconstituyente o remineralizante, por lo que es habitual añadir unas gotas de este líquido al té, justificando que es bueno para el cansancio físico (Fernández, 2012; Mira, 2014).

Se ha demostrado mediante estudios que tiene la capacidad de disminuir la presión sanguínea en personas que padecen hipertensión, mediante la acción de 2 dipéptidos inhibidores de la ECA producidos por *A. oryzae*, los cuales fueron aislados del producto tradicional. Los valores determinados de la concentración necesaria para inhibir el 50% de la reacción enzimática, medición conocida como IC<sub>50</sub>, son muy variables y dependerán de las condiciones de proceso ocupadas principalmente durante la etapa de fermentación (Pihlanto y Korhonen, 2015). De igual manera, se ha confirmado la capacidad de sus isoflavonas para reducir los síntomas de la menopausia, entre ellos la descalcificación de los huesos, ya que ayuda a la retención de calcio; estos componentes también intervienen en los procesos relacionados con el desarrollo de un cáncer, pues actúan como antioxidantes mediante la expulsión de los RL. La participación de las isoflavonas, junto con la composición en ácidos grasos, incluye la reducción de los niveles de triglicéridos, colesterol total y LDL, razón por la que este alimento puede prevenir el padecimiento de una enfermedad cardiovascular y/o hipertensión, ya que favorece al sistema circulatorio. Por si esto fuera poco, otro de sus beneficios es participar en la destrucción de algunos microorganismos que atacan el organismo como *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholera*, *Salmonella enteritidis*, y *E. coli* patógena y no patógena, con ello mejora la digestión, previniendo enfermedades del aparato digestivo; además, es un producto que ayuda a bajar de peso debido a su bajo contenido calórico determinado por su composición nutrimental, aunque cabe mencionar que ésta puede variar en ciertos componentes dependiendo del tipo de salsa de soya, como el caso de la variedad tamari, la cual es recomendable para las personas con enfermedad celíaca por

tratarse de un producto libre de gluten (proteína presente en el trigo) (Riaz, 2006; Mira, 2014; CIM, 2017; Cuesta, 2018).

Recientemente se ha reportado que, durante su elaboración, los polisacáridos originados en la pared celular de la soya son resistentes a la hidrólisis enzimática, por lo que permanecen en la salsa de soya incluso después de la fermentación y usualmente son denominados “polisacáridos shoyu” (PSS). Tras realizar un análisis *in vitro* e *in vivo*, se determinó que los PSS mejoran la absorción del hierro mediante la estabilización de las condiciones gastrointestinales y, por lo tanto, este condimento es potencialmente prometedor para el tratamiento de la anemia a través de los alimentos. Aunado a esto, también se les atribuyen fuertes actividades antialérgicas, ya que mejoran las funciones de los macrófagos y linfocitos, y ayudan a aumentar el nivel de histamina, elementos necesarios para combatir las infecciones y alergias; esto fue comprobado a través de un estudio en el que se realizó una suplementación oral con PSS a individuos con alergias, resultando en una intervención efectiva para los pacientes con rinitis alérgica (Kobayashi *et al.*, 2006).

### Miso

Las propiedades del miso son similares a las de la salsa de soya y también ha sido utilizado durante siglos como reconstituyente. Contiene el resto de beneficios que presenta la soya en sí, como el alto contenido de isoflavonas pero además de esto, al tratarse de un alimento fermentado, presenta actividad enzimática a causa de los microorganismos probióticos contenidos, a los que se les atribuye un papel muy importante y donde *A. oryzae* es el principal. Se recomienda consumirlo en crudo o agregarse al guiso hasta el final, puesto que al cocinarlo pierde parte de sus propiedades beneficiosas (Fernández, 2012).

Ya que existen varios tipos de miso, su procesamiento cambia y su composición también, sin embargo, la presencia de los componentes funcionales se mantiene casi constante, aunque esto puede verse afectado si el producto se somete a pasteurización; por ello, generalmente este paso es omitido en su elaboración. De acuerdo con esto, se tiene que el miso es un alimento probiótico con poder enzimático, capaz de favorecer el equilibrio de la microbiota intestinal y de reducir

los trastornos digestivos, tales como estreñimiento, indigestión, gastritis, úlceras gástricas, úlceras duodenales, entre otros; de tal manera que se puede considerar un producto con acción protectora para el revestimiento del estómago. En relación a esto y tomando en cuenta la participación de las isoflavonas, hay estudios que indican que quienes consumen regularmente sopa miso son menos susceptibles a padecer un cáncer de estómago, pulmón, colon y de mama, esto parece especialmente cierto para las variedades que fermentan durante 6 meses o más, mostrando una reducción de 50-54% para el cáncer de hígado y de mama. Otra intervención de los probióticos, en unión con el contenido de fibra dietética del producto, es la limpieza de los intestinos mediante una purga de las bacterias dañinas y las toxinas presentes en el organismo; sin embargo, esta función desintoxicante se cree que también puede deberse a la presencia de una sustancia conocida como “zybicolin”, la cual es un agente enlazante que ayuda a la eliminación y depuración de elementos que se originan en el cuerpo a través de la radiactividad, la contaminación industrial y el contacto con productos químicos artificiales del suelo y del sistema alimentario. Algunos estudios indican que los alimentos ricos en probióticos, como el miso, pueden beneficiar la salud del cerebro ayudando a mejorar la memoria y a reducir los síntomas de ansiedad, estrés, depresión, autismo y trastorno obsesivo-compulsivo (TOC); de igual manera, son capaces de reducir hasta en un 33% la necesidad de consumir antibióticos que combaten infecciones, debido a que impulsan un óptimo funcionamiento del sistema inmunitario (Mizukami, 2012; Torres, 2012; Díaz, 2017; Petre, 2017).

Además de lo ya mencionado, el miso es rico en magnesio y potasio, lo cual puede servir como una barrera efectiva contra la ingesta excesiva de sodio, previniendo la hipertensión y sus daños relacionados. Su contenido en minerales no es el único responsable de su propiedad antihipertensiva, hasta ahora se han hecho estudios enfocados en su capacidad para tratar la hipertensión, mediante la presencia de PBAs, obteniendo como resultado que durante la fermentación sí hay formación de 2 dipéptidos, por acción de *A. oryzae*, y un tripéptido; éstos exhiben actividad inhibidora de la ECA, sin embargo, su IC<sub>50</sub> es muy variable, lo que indica que su poder de acción depende en gran parte de la técnica de procesamiento

(Mizukami, 2012; Pihlanto y Korhonen, 2015). Por otro lado, otro de los factores clave del miso es su contenido en lecitina y ácido linoleico, elementos que son de gran ayuda para regular los niveles de colesterol en sangre y con ello, prevenir una enfermedad cardiovascular (Globitz, 1995). En lo que respecta a su poder antioxidante, se ha reportado la producción de un efecto significativo en la prolongación de la vida útil de quienes lo consumen, ya que ayuda a depurar sustancias tóxicas del organismo a través de la eliminación de RL; como parte de esta función, se le atribuye la capacidad de nutrir el cabello y la piel, siendo esta última la más favorecida por su constante aplicación, pues ejerce una acción exfoliante que ayuda a retirar las impurezas y células muertas, dejándola limpia, fresca y humectada (Mizukami, 2012; Torres, 2012; SNEC, 2014; Díaz, 2017). Algunos estudios han llegado a considerar que el miso puede retrasar la progresión de la diabetes tipo 2 (Petre, 2017).

### Sufu

El valor funcional del sufu se fundamenta en que está hecho con frijol de soya, es un alimento con alto valor proteico y es fácilmente digestible, motivo por el que los habitantes de China lo consideran un alimento saludable. Por esta razón se espera que sea un producto adecuado para su consumo en los países occidentales, ya que entre sus características sobresale que es un alimento de origen vegetal que puede ser usado como un sustituto de las proteínas animales; esto representa un cambio importante en la dieta debido a que tiene un impacto en la prevención y tratamiento de patologías crónicas, como son las enfermedades cardiovasculares, las lesiones cardíacas, el cáncer, la hipertensión y los altos niveles de colesterol (Han *et al.*, 2001; Xie *et al.*, 2018).

Las isoflavonas son otros de los componentes funcionales presentes en el sufu, éstas tienen gran participación en la disminución de los síntomas menopáusicos, como la osteoporosis; aunque también parte de esa protección ósea puede deberse al contenido de calcio, el cual se considera significativo en este alimento. En lo que concierne a las isoflavonas, se ha observado que normalmente predomina su forma como glucósidos, pero una vez que se lleva a cabo la fermentación, son convertidas en sus agliconas correspondientes por la acción de

la  $\beta$ -glucosidasa; esta bioconversión de las isoflavonas puede mejorar fuertemente las propiedades funcionales del sufu. Existen otros componentes que también se ven favorecidos por la fermentación, ya que hay un incremento en sus niveles, éstos son el AGAB, los fitoesteroles y las saponinas. El AGAB es un aa no proteico que se encuentra en altas concentraciones en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos, su función principal es actuar como un neurotransmisor que garantiza un equilibrio entre la excitación e inhibición neuronal; se ha demostrado que el consumo de AGAB presenta beneficios a la salud asociados a sus efectos antihipertensivo, tranquilizante y /o antidepresivo, entre otros. Puede ser producido por algunos microorganismos y suele sintetizarse a partir del Glu, uno de los aas sobresalientes de la proteína de soya; la acumulación de este compuesto puede ocurrir durante la fermentación y la maduración limitada a un entorno anaeróbico. Con respecto a los fitoesteroles, éstos son compuestos esteroides que varían en sus cadenas laterales de carbono o en los dobles enlaces, los más comunes son el sitosterol y estigmasterol, los cuales son funcional y estructuralmente análogos al colesterol; entre sus funciones se pueden mencionar la reducción del colesterol total y LDL en sangre, así como una posible inhibición y retraso en el desarrollo de tumores. Por otra parte, las saponinas son glucósidos triterpenoides anfifílicos con una cadena polar que se conjuga a un anillo pentacíclico no polar, su contenido en el producto es determinado en gran parte por la variedad del frijol de soya que fue ocupado en la elaboración; estos compuestos pueden contribuir a la salud con la reducción del colesterol a través de un incremento de la excreción biliar (Guo, 2009; Santos *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2018).

Los estudios realizados en este producto determinaron que los péptidos liberados durante el proceso de fermentación y maduración presentan una significativa actividad inhibidora de la ECA, mecanismo por el cual también se respalda su propiedad antihipertensiva. Sin embargo, algunos trabajos se han enfocado en evaluar las propiedades relacionadas con el sufu si se modifica algo en su elaboración; fue en específico un estudio el que observó que al ocupar *A. oryzae* durante la fermentación, hay una liberación de péptidos con actividad antioxidante, los cuales trabajan mediante un mecanismo secuestrador del radical 1,1-difenil-2-

picrilhidrazilo (DFPH). Con ello, además se observó que la temperatura y la duración de la etapa de maduración afectan la actividad antioxidante, de tal manera que las condiciones que optimizaron esta propiedad fueron una temperatura de 45°C por 16 días. No fue posible confirmar si esta capacidad antioxidante fue atribuida sólo a los PBAs o a la combinación de éstos con las isoflavonas (Pihlanto y Korhonen, 2015; Xie *et al.*, 2018).

### Tofuyo

Las propiedades benéficas del tofuyo lo han hecho un alimento atesorado, no sólo como un plato de acompañamiento nutritivo, sino también como un producto saludable que se ha consumido durante siglos después de la recuperación de una enfermedad; se cree que esto fue implementado por los nobles de Okinawa durante el periodo de la dinastía Ryukyu. Ha sido demostrado que contiene una variedad de componentes funcionales, entre los cuales se encuentran los PBAs, las isoflavonas, el AGAB, las saponinas, los ácidos grasos esenciales y los oligosacáridos; todos ellos son compuestos que fueron conservados o mejorados durante el proceso de elaboración. Aunado a esto, debido a que es un alimento bajo en grasas saturadas y reducido en sal, se considera que es un producto que debe promoverse más en los países occidentales. Son varias las propiedades que brinda el tofuyo, como pueden ser la protección de la pared estomacal y de las membranas mucosas, la inhibición de la síntesis del colesterol, la mejora de la circulación sanguínea, entre otras (Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011; Sakudo y Sesoko, 2013).

Un estudio llevado a cabo en animales, determinó los efectos del extracto de tofuyo sobre el virus de la influenza; al analizar los resultados se observó que debido al hecho de que no había ninguna diferencia significativa entre el grupo tratado con el extracto y el grupo control, se consideró que el tofuyo no tiene ningún efecto inhibitorio sobre la infección por el virus de la influenza, pero sí es capaz de contribuir al mantenimiento de la salud después de la enfermedad. Por otra parte, en otro análisis se halló que el extracto de tofuyo contiene di- y tri-péptidos, los cuales mostraron ser absorbidos a través de la vía transportadora, por lo que alcanzan una alta concentración en la sangre, medio en el que actúan y

muestran efectos en contra del virus. Independientemente de estas discrepancias en los resultados, también se observó que las propiedades antioxidantes del tofuyo pueden contribuir a la defensa contra el estrés oxidativo inducido por la misma infección; de igual manera, se considera que otro de los mecanismos potenciales contra el virus es la inducción de las funciones inmunitarias, demostrado en animales tratados con extracto de tofuyo (Sakudo y Sesoko, 2013).

La ciencia ha comprobado que es un producto con propiedad antihipertensiva, debido a la presencia de 2 PBAs liberados durante su elaboración, estos fragmentos de péptidos actúan por un mecanismo de inhibición de la ECA y exhiben una IC<sub>50</sub> de 1,77 mg/mL; se determinó que la secuencia de aas del tripéptido es Ile-Phe-Leu (IFL) y del dipéptido es Trp-Leu (WL), donde la IFL proviene de las estructuras primarias de las  $\alpha$ - y  $\beta$ -subunidades de la  $\beta$ -conglucina, mientras que el WL forma parte de la estructura primaria de la glicina. Parece ser que el IFL es liberado por las proteinasas producidas por *Monascus purpureus* y/o *A. oryzae*, durante la etapa de fermentación; el caso es diferente para WL ya que, aunque la subunidad básica de la glicina no es fácilmente degradada por tales enzimas, es posible que este fragmento provenga de ésta cuando la fermentación se prolonga (>3 meses). Fueron investigados sus efectos antihipertensivos *in vivo* en REH, se observó que después de 11-12 semanas de tratamiento la presión sanguínea del grupo tratado con tofuyo (A) empezó a disminuir en comparación con el grupo control (B); sin embargo, el tiempo no fue suficiente para llegar a una conclusión, ya que la mayoría de los estudios enfocados en esta propiedad han trabajado con tratamientos más prolongados. Es considerado que parte de ese efecto antihipertensivo se debe a la presencia del AGAB y del alcohol etílico contenido en el awamori, el cual es usado como una de las materias primas. Como parte de las investigaciones realizadas alrededor de este alimento, también se han evaluado sus efectos hipocolesterolemicos, donde se ha observado que el nivel de triglicéridos y colesterol total tienen una disminución significativa en el grupo A con respecto al grupo B; con base en estos resultados, se espera que el tofuyo contribuya a la mejora del metabolismo de los lípidos. Otra de sus propiedades se enfoca en el efecto que tiene sobre la deformabilidad de los eritrocitos en ratas con alto



contenido de grasa; tal acción, en parte, puede ser apoyada por la actividad antioxidante del tofuyo, en especial su mecanismo secuestrador del radical DFPH, proceso también realizado por las isoflavonas (Shurtleff y Aoyagi, 2011; Yasuda, 2011; Pihlanto y Korhonen, 2015).

### Tempeh

Es un producto que no sólo añade variedad a la alimentación, sino que también la mejora nutricional y funcionalmente, ya que es rico en proteínas, fibra, isoflavonas y contiene vitamina B12. En Indonesia era conocido localmente por su fácil digestibilidad y hay evidencia anecdótica de que, durante la Segunda Guerra Mundial, los prisioneros que sufrieron de disentería (trastorno inflamatorio del intestino) no pudieron tolerar el consumo de los frijoles de soya, pero fueron capaces de subsistir con tempeh. En los últimos años, se ha encontrado que el tempeh proporciona una serie de beneficios a la salud, entre los cuales se incluyen efectos antimicrobianos, antioxidantes, hipocolesterolémicos, antihipertensivos y de alivio para algunos síntomas de la menopausia; debido a esto, se ha sugerido que este producto tradicional podría ser también procesado en forma de polvo para ser utilizado como ingrediente funcional de alimentos saludables (Nout y Kiers, 2004; Liu, 2008; Dinesh *et al.*, 2009; Bavia *et al.*, 2012; Fernández, 2012; Torres, 2012).

Se ha estudiado el papel de los componentes funcionales y se ha determinado que muchos de ellos son producidos o incrementados durante la fermentación, lo que aplica para ciertos agentes antibacterianos y antioxidantes, la vitamina B12, las isoflavonas y los PBAs (Bavia *et al.*, 2012; Fernández, 2012). La investigación ha permitido conocer que los indonesios, quienes consumen el tempeh como parte de su dieta regular, lo reconocen como un medicamento para la disentería y rara vez son víctimas de las enfermedades intestinales a las que están constantemente expuestos. Algunos estudios han indicado que *R. oligosporus* tiene actividad antibacteriana sobre *Bacillus sp.* (especialmente *B. subtilis*), *S. aureus* y *Streptococcus cremoris*; además, puede producir ciertos compuestos que interfieren en la adhesión de *E. coli* a las membranas intestinales pequeñas del borde en cepillo. Debido a su propiedad antimicrobiana, puede tratar una

enfermedad como la diarrea, siendo útil como un suplemento nutricional en la terapia de rehidratación oral y protegiendo además contra la pérdida de fluidos inducida por esta patología; por lo tanto, su consumo acelera la recuperación de los niños y animales, los cuales tienen mayor riesgo de sufrir diarrea enterotóxica y malnutrición, e incluso representa un alimento nutritivo y recomendable para la alimentación complementaria de los niños que poco a poco dejan de ser amamantados (Nout y Kiers, 2004; Dinesh *et al.*, 2009).

Las isoflavonas del tempeh ejercen una variedad de roles, pueden actuar como antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos e inhibidores enzimáticos, interviniendo en varios procesos bioquímicos y fisiológicos. Como se mencionó anteriormente, estos componentes pasan por una reacción de conversión, resultando en una reducción de los glucósidos y un incremento de sus agliconas; este cambio puede suceder desde la etapa de remojo, ya que la enzima  $\beta$ -glucosidasa también puede ser activada de esta manera. Mediante estudios se ha determinado la presencia de 5 agliconas importantes en este producto: genisteína, daidzeína, gliciteína, el factor 2 (6,7,4'-trihidroxiflavona) y el ácido 3-hidroxiantranílico (AHA), los 2 últimos son producidos por *R. oligosporus*, contribuyendo con la resistencia del tempeh al desarrollo de la rancidez. Aunado a esto, el efecto antioxidante de las isoflavonas también tiene un papel protector contra el estrés oxidativo, uno de los factores implicados en la patogénesis de enfermedades crónico-degenerativas; en general, estas patologías pueden ser tratadas y/o prevenidas por más de un componente, como la fibra dietética que además de proporcionar ese beneficio, mejora el funcionamiento intestinal (Riaz, 2006; Fernández, 2012). Con respecto al papel de la proteína, ha sido posicionada como uno de los principales participantes en los procesos preventivos del cáncer de mama, colon y próstata; se cree que su consumo en lugar de la proteína animal puede traer beneficios a quienes tienen una reducción en su función renal y además, se le ha relacionado con el efecto reductor que tiene el tempeh sobre el peso, debido a que algunos estudios han documentado que promueve una disminución de la cantidad de grasa almacenada en el cuerpo, mientras hay un incremento de la masa magra (Globitz, 1995; Nout y Kiers, 2004; Dinesh *et al.*, 2009; Bavia *et al.*, 2012). Finalmente, derivado de su naturaleza proteica, también

se ha identificado la liberación de PBAs con actividad antioxidante y actividad inhibidora de la ECA, exhibiendo una IC<sub>50</sub> de 0,51 mg/mL (Pihlanto y Korhonen, 2015).

Hallazgos más recientes sobre este alimento han determinado que, aunque la presencia de ácido fítico interfiere en la absorción de minerales (especialmente zinc), también puede reducir el riesgo de formación de cálculos renales, de enfermedades cardíacas y puede actuar como agente anticancerígeno mediante la inhibición de la formación de células endoteliales dañadas (Bavia *et al.*, 2012).

### Natto

Este alimento ha formado parte de la dieta tradicional japonesa desde tiempos históricos y, según diversos estudios, era consumido porque se consideraba un aperitivo relajante y desintoxicante; sin embargo, ha sido más reconocido durante generaciones como un remedio popular para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Es muy rico en proteínas de alto valor biológico, isoflavonas, vitamina K2 y contiene una enzima muy particular llamada “natoquinasa” que, como varios de sus componentes, se origina a partir de la fermentación. En los últimos años, su interés funcional ha crecido, ya que se le ha relacionado con la reducción de hasta un 80% de la pérdida de masa ósea en mujeres posmenopáusicas, pero investigaciones recientes han demostrado que el natto tiene más beneficios para la salud (Liu, 2008; Piñeiro, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2012a).

En lo concerniente a sus isoflavonas, tiene un gran contenido de éstas en su forma de agliconas, debido a la bioconversión ocasionada por *B. natto*. Se ha detectado que las principales son la genisteína y daidzeína, las cuales son más fáciles de absorber en esta presentación, por lo que es un producto de fácil digestibilidad; de igual manera que el tempeh, se piensa que la acción enzimática ocurre desde la fase de remojo. El papel de estos componentes se atribuye principalmente a la genisteína, la cual ha mostrado que mejora el metabolismo de la glucosa y los lípidos, así como da protección a las células  $\beta$  del páncreas (Hasim *et al.*, 2015). La característica propiedad protectora de la salud ósea en personas mayores es, en principio, atribuida a su gran contenido de vitamina K2,

derivada de *B. natto*, pero también se considera que hay participación de las isoflavonas. Se ha planteado que la vitamina K2 es una sustancia beneficiosa para los huesos porque influye en la maduración de la osteocalcina, proteína necesaria para unir el calcio a la matriz ósea; esta propiedad se fundamenta en que esta vitamina liposoluble actúa como cofactor en una reacción de carboxilación que activa a la osteocalcina (Liu, 2008; Piñeiro, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2012a). Aunado a esto, algunos estudios aseguran que tener una alta ingesta de vitamina K2 se asocia con un menor riesgo de enfermedades cardíacas, calcificación arterial y muerte.

Por otra parte, se ha hecho mención de la presencia de nattoquinasa, enzima específica de este alimento a la cual se le atribuye una variedad de propiedades funcionales, como el tratamiento de las hemorroides, los espasmos musculares, el cáncer, entre otros (Link, 2018). La nattoquinasa destaca como un potente fibrinolítico, es decir, que es capaz de romper la fibrina, una proteína que desempeña un importante papel en la coagulación sanguínea; por lo tanto, para ejercer su efecto anticoagulante, además de seguir tal mecanismo, también estimula la producción de plasmina, el anticoagulante natural del organismo. A través de estos hallazgos es como se ha llegado a la conclusión de que la nattoquinasa es un apoyo enzimático natural para la salud vascular, por lo que es un componente efectivo para la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares. Recientes investigaciones sugieren que una nueva actividad de esta enzima podría ser el tratamiento del Alzheimer, esto se ha respaldado mediante estudios, en los que se han llegado a observar placas en el interior de las neuronas de las personas afectadas con esta enfermedad degenerativa, estas estructuras dañinas formadas por un tipo de proteínas conocidas como  $\beta$ -amiloides, pueden ser degradadas por acción de la nattoquinasa (Piñeiro, 2009; Shurtleff y Aoyagi, 2012b). Se piensa que otro beneficio relacionado con esta enzima es la disminución del colesterol en la sangre; esta propiedad se ve apoyada también por su buen perfil de lípidos compuesto en un 50% por ácido linoleico (DESN, 2016).

Debido a la presencia de *B. natto*, este producto puede ser considerado como un alimento rico en probióticos, lo que le confiere la capacidad de mantener el

equilibrio de la microbiota intestinal, a partir del cual se puede optimizar la salud del sistema digestivo, previniendo enfermedades como la diarrea, la colitis ulcerosa, el síndrome del colon irritable, entre otras; se ha sugerido que además de esto, *B. natto* puede ejercer una acción reductora en la absorción de glucosa, ya que su supervivencia en el intestino puede ser de hasta 1 semana, razón por la cual requiere la utilización de componentes como la glucosa. Un efecto también atribuido a las proteasas y peptidasas de *B. natto*, es la liberación de PBAs con propiedades antioxidantes e inhibidoras de la ECA, de los cuales se ha determinado que uno está compuesto por 7 aas diferentes; a través del desarrollo de estudios se ha observado que su propiedad antioxidante puede desarrollarse por 2 mecanismos: actividad secuestradora de RL y efecto inhibidor en la oxidación de LDL, mientras que la propiedad inhibidora ha mostrado valores variables del IC<sub>50</sub>. Con relación al papel de sus minerales, se ha hallado que el calcio, manganeso, zinc y cobre, algunos de los más abundantes en el natto, tienen una participación importante en la conservación de la densidad ósea; por otro lado, su alto contenido en fibra puede ayudar a reducir los niveles de colesterol para prevenir una acumulación en las arterias y, por lo tanto, el padecimiento de una enfermedad cardiovascular (Pihlanto y Korhonen, 2015; DESN, 2016; Link, 2018).

## Discusión

Los productos de la soya presentan propiedades sensoriales y nutrimentales modificadas debido al proceso por el que pasa la semilla para la obtención de un alimento derivado, lo que puede ser representado a través de la Tabla 1.1, donde se hace una comparación del contenido proteínico de los concentrados y aislados de proteína, con respecto a la soya sin procesar, mostrando que efectivamente hay un incremento notorio de este nutrimento. Hasta ahora se conoce que hay una gran variedad de productos de soya, muchos de los cuales se ilustran en la Figura 1.2, pero actualmente una sección innovadora de éstos representa los alimentos tipo lácteos, que hoy en día son una excelente alternativa a los productos lácteos para las personas que llevan una filosofía de vida que apoya el no consumo de productos de origen animal o que cuidan su alimentación. Sin embargo, las propiedades de sus productos no pueden ser aprovechadas del todo cuando se conservan ciertos componentes que representan antinutrientes, por lo que es necesario el uso de la biotecnología a través de la fermentación, un proceso que, a pesar de lo legendaria que puede ser su aplicación, brinda muchas ventajas a nivel nutricional e industrial, motivo por el que la soya no se escapa de ser un sustrato para la elaboración de alimentos fermentados; la fermentación, además, puede evitar que la soya sea sometida a procesos agresivos y desgastantes donde varios de sus componentes se pierden, llevando solamente al incremento de merma.

En general, la popularidad de estos productos es baja, lo que puede sustentarse, en gran parte, en los niveles de producción de soya a nivel nacional. Las estadísticas más recientes, según la Figura 1.3, muestran que América es el continente más destacado en su producción, pero México no ocupa un lugar como uno de los principales productores, esto puede explicarse ya que son algunos los estados destinados a su cultivo y a que México se ha vuelto cada vez más dependiente de países, como E.U, debido al TLCAN, el cual demanda una relación amistosa entre los países a través de la compra-venta de recursos para cubrir los requerimientos nacionales. De acuerdo con la Figura 1. 5, México ha mostrado un incremento en su producción, sin embargo éste no ha sido constante, lo que se puede atribuir a las tendencias alimentarias que se han seguido los

últimos años y que son apoyadas mayoritariamente por los medios de comunicación, estas modificaciones en la alimentación llevan a que la mayoría de la población cambie frecuentemente de gustos y que se prive de conocer los beneficios de un alimento, siendo un mínimo quienes mantienen sus hábitos una vez que integran a su dieta un alimento nuevo. Las estimaciones para dentro de 11 años, como se observa en la Figura 1.6, son alentadoras porque teóricamente la producción y el consumo de la soya, mediante sus productos, muestran un incremento, pero para que esto pueda lograrse se necesita apoyar la producción nacional, es decir, equilibrar la balanza con respecto a la dependencia que se tiene con países exportadores de este producto, pues la soya cultivada en México también puede ser bien aprovechada.

Se considera que México es un país conservador en su gastronomía, por lo que difundir la soya bajo una de sus presentaciones originarias del Oriente, puede ser difícilmente aceptado, ante esto se recomienda procesarla y presentarla como un tipo yogurt, lo que significa tomar como base el concepto de un alimento muy conocido a nivel mundial y que normalmente puede hallarse en el mercado bajo muchas denominaciones: bajo en grasa, natural, con fibra, saborizado, bebible, batido, deslactosado, etc. Actualmente, la gran variedad de productos en el mercado puede hacer creer que le simplifican la vida al consumidor, pero esto puede ser contraproducente, pues hallar un solo producto bajo 10 denominaciones diferentes resulta confuso en algún punto y ante esta situación el cliente puede optar por consumir el producto de presentación original o cambiar por otro que sí sea entendible. En este contexto resulta un gran avance tecnológico el yogurt de soya pues se ve simplificada su elaboración, empezando por el hecho de que no es necesario vender un producto deslactosado ya que la soya no contiene este azúcar o que la denominación de un yogurt light o bajo en grasa no es una presentación a manejar en un producto donde la materia prima originalmente presenta un bajo contenido de ácidos grasos saturados; de la misma manera, si se busca la obtención de un producto con fibra, desde la elaboración de la bebida de soya, como se observa en la Figura 2.1, se puede derivar una porción o residuo rico en fibra (okara) que puede ser aprovechado para enriquecer el producto. De igual manera, esta acción puede influir indirectamente de forma positiva en otros

ámbitos, como el medio ambiente y la economía del país, a través de la generación de un menor volumen de envases de plástico, el ahorro de recursos naturales, el apoyo de la producción nacional, una menor inversión en los productos importados, un equilibrio entre la producción-consumo de productos de origen animal y origen vegetal, entre otros beneficios.

Como se ha expuesto a lo largo de la investigación, al hablar de los alimentos fermentados de la soya, se remite a los alimentos funcionales, una categoría de productos que cada vez es más reconocida. La Figura 3.1 señala que estadísticamente América del Norte ocupa un segundo lugar en ventas de alimentos funcionales, pero Latinoamérica es una de las regiones mundiales con valores más bajos, lo que puede deberse a la falta de una normativa que regule el uso y etiquetado de alimentos funcionales elaborados en esa área. Hasta ahora, en México no se cuenta con una norma específica para los productos de esta categoría y la más acorde a su definición no considera un tercer papel como alimentos funcionales. A pesar de esta cifra desalentadora en ventas, Latinoamérica ha sido de las regiones que mayor incremento ha tenido en el mercado de alimentos funcionales, como puede verse en la Figura 3.2, lo que puede ser un indicio de que la mentalidad de los consumidores ha cambiado para bien con respecto al concepto de estos productos, pues muchas de las personas pueden considerarlos erróneamente como medicamentos o alimentos con un gusto desagradable; ante esta reacción es necesario venderlos y presentarlos como alimentos agradables, saludables y aptos para el consumo diario.

La mayoría de los productos fermentados de soya son tradicionales y de origen asiático, lo que los hace poco comunes en la alimentación occidental, sin embargo, hoy en día ya son más conocidos en México debido a la difusión cultural e incluso, pueden hallarse en venta en tiendas exclusivas. Las personas que suelen consumir y adquirir este tipo de productos van adaptando su paladar al gusto particular que presentan y hasta pueden incluirlos en preparaciones occidentales; la desventaja es que sólo algunos consumidores llegan a informarse sobre el origen y las propiedades de estos productos. Aunque existen industrias que los elaboran para venderlos en México, esto no asegura que sean elaborados de acuerdo con el proceso tradicional, pues uno de los elementos clave en su



elaboración es el tiempo y éste termina siendo un factor problemático cuando se maneja un ritmo rápido de producción. Por ello, una propuesta que podría seguirse es implementar una tecnología de procesamiento “híbrida”, la cual permita elaborar los productos con técnicas modernas en un periodo que evite contratiempos para la industria pero que también conserve el toque tradicional que los caracteriza. Hasta ahora, esto ha sido pensado para la elaboración de salsa de soya, donde se ha propuesto optimizar las condiciones de la maduración para reducir el tiempo requerido pero respetando el proceso tradicional, pues es una etapa de duración prolongada como se esquematiza en la Figura 5.1; esta iniciativa es una gran idea, ya que permite la formación de los componentes sensoriales y funcionales que sólo mediante la fermentación pueden sintetizarse y que difícilmente pueden estar presentes cuando se elabora por una vía no fermentativa. Aunado a esto, dar entrada a este tipo de tecnología industrial también puede promover el aprovechamiento de todos los subproductos para elaborar, a su vez, otros productos, un ejemplo que es aportado por Indonesia a través de la producción de sus variedades de tempeh, como se muestra en la Tabla 5.3; por lo tanto, la ejecución de esta propuesta también busca evitar el desperdicio excesivo de materia orgánica.

Estudios realizados en humanos, sobre las propiedades de los alimentos fermentados de la soya, confirman que éstos pueden actuar en el organismo de forma benéfica, sin embargo, hay cierta inconsistencia en los resultados, lo que puede deberse a muchas razones pero principalmente al medio en el que se estudia la acción del compuesto, ya que el metabolismo de cada organismo es diferente y es quien determina, en gran parte, los posibles mecanismos de absorción y transporte resumidos en la Tabla 4.2. De tal manera que hay quienes siguen el mecanismo de acción confirmado experimentalmente pero también puede haber individuos que no reaccionan de la misma manera porque su cuerpo procesa de forma diferente, desencadenando una acción nula o el mismo efecto bajo otro mecanismo. Tal es el caso de la propiedad antihipertensiva que poseen los péptidos bioactivos de la soya, actividad que es respaldada principalmente por la inhibición de la ECA, pero que según otros estudios podría seguir mecanismos alternativos. Si bien se tiene la certeza de que el consumo de estos alimentos

brinda beneficios a la salud, esto no sólo depende del producto, sino del consumidor y el estilo de vida que lleva normalmente. Actualmente, las personas que viven en la ciudad llevan una vida muy acelerada en donde lo que menos consideran es su alimentación y realizar una rutina de ejercicio, por lo que el consumo de comida rápida es la opción más inmediata, aunado a esto que constantemente andan bajo un ritmo de estrés, motivos por los son más susceptibles de padecer ciertas molestias como síntomas primarios de una enfermedad aguda o crónico-degenerativa. Bajo estas condiciones, el alimento puede ejercer su acción en la medida que lo permita el organismo hospedero, pero esto no asegura que el individuo sea protegido como debería, aunque el producto sea 100% confiable. Se puede decir que la ignorancia de los beneficios de este tipo de productos se debe, en gran medida, a la resistencia puesta por el propio consumidor para hacer un cambio en sus hábitos alimentarios y actividades diarias. Aunque los alimentos fermentados de soya tienen muchas virtudes, su inclusión a la dieta debe ser asesorada por algún experto para evaluar qué tan segura es su ingesta, de acuerdo con el estado de salud del consumidor, ya que cuando hay ciertas restricciones en la alimentación, es necesario tomar en cuenta esto para discernir entre los productos que pueden consumirse de los que no; este es el caso de las personas que padecen hipertensión y por lo tanto tienen limitado el consumo de sal, razón por la que no es favorable que ingieran grandes cantidades de alimentos muy salados como la salsa de soya o el miso.

## **Conclusiones**

La soya es una leguminosa que no ha sido aprovechada lo suficiente en México, a pesar de su relevancia nutricional; sin embargo, últimamente ha ganado valor como una materia prima para elaborar alimentos tipo lácteos, donde puede incursionar como un alimento fermentado tipo yogurt, representando una mejora tecnológica importante. La evidencia científica hallada determinó que, bajo esta presentación, puede ser considerada un alimento con un alto valor nutrimental y, además, podría contener compuestos bioactivos que lo hacen un alimento funcional, ya que contribuiría a la prevención o el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas que padece el grueso de la población mexicana. Finalmente, en este estudio se dio a conocer que los componentes bioactivos

presentes en un alimento fermentado de soya son exclusivos del efecto sinérgico que tienen la soya y la fermentación sobre las diferentes actividades biológicas que éstos poseen.

### **Perspectivas**

La promoción y difusión de la soya fermentada en sus diversas presentaciones representa un reto en la alimentación mexicana, pero no es imposible; para explorar cada uno de sus beneficios es necesario impulsar, desde un inicio, la producción nacional de esta leguminosa a través del máximo aprovechamiento de sus áreas de cultivo y la reducción de su importación. Este fin implica que, a su vez, se fomente el trabajo de las empresas mexicanas para elaborar productos de esta naturaleza, ya que muchas de las compañías existentes son reconocidas a nivel mundial y esto podría ser de gran ayuda para la divulgación de su consumo, lo que puede ser conveniente para la economía del país, pero también significaría un gran avance en la diversificación de la gastronomía nacional. De esta manera podría disponerse de sus productos a un precio más accesible, con lo que ya no representaría un impedimento en el aspecto económico para la mayoría de las familias mexicanas. Debido a que es un alimento poco consumido por la mayor parte de la población nacional, el organismo no está familiarizado con su digestibilidad, un inconveniente especialmente notorio en algunos de sus derivados no fermentados; bajo estas circunstancias, una inclusión paulatina a la dieta puede hacer la diferencia en su aceptación, sin embargo, resulta más viable su ingesta habitual como un alimento fermentado, ya que esta presentación lo hace más asimilable y potencialmente benéfico para la salud.

## Bibliografía

1. Álvarez, J. y Serra, L., 2012. La soja en la prevención de la enfermedad cardiovascular. *Revista Española de nutrición comunitaria*, 18(2), 13-14.
2. Álvarez, N. S. y Bague, A. J., 2011a. ¿Qué son los alimentos funcionales? En: N. Álvarez y A. Bague. eds. *Los alimentos funcionales. Una oportunidad para una mejor salud*. Madrid: A. Madrid Vicente, 10-12.
3. Álvarez, N. S. y Bague, A. J., 2011b. Probióticos. Tecnología de elaboración. Productos en el mercado. En: N. Álvarez y A. Bague. eds. *Los alimentos funcionales. Una oportunidad para una mejor salud*. Madrid: A. Madrid Vicente, 23-27, 29-41, 44-46.
4. American Soybean Association- International Marketing (ASA) y United Soybean Board (USB), 2009. *La soja, sus productos y aplicaciones*. Guadalajara: Soyfoods Council.
5. Arai, S., Morinaga, Y., Yoshikawa, T., Ichiishi, E., Kiso, Y., Yamazaki, M. (2002). Recent Trends in Functional Food Science and the Industry in Japan. *Bioscience, biotechnology, biochemistry*. 66(10), 2017-2029.
6. Aranceta, J., Pérez, C., Fernández, A. (2012). Consejos prácticos para incluir la soja dentro de una dieta equilibrada. *Revista Española de nutrición comunitaria*, 18(2), 55.
7. Araneda, M. 2018. *Legumbres. Composición y Propiedades*. [En línea] (Actualizado al 10 de mayo de 2018). Disponible en: <http://www.edualimentaria.com/legumbres-composicion-y-propiedades> [Último acceso el 29 de enero de 2019].
8. ASA, 1992. *La leche de soja como base para la elaboración de análogos lácteos. Lácteos y cárnicos mexicanos*. Ciudad de México: Asociación Americana de la Soya (ASA).
9. ASA, 2004. *Tópicos sobre el procesamiento de la soja. Fascículos 1-4*. Ciudad de México: Asociación Americana de la Soya (ASA).

10. ASA, 2005. *Conferencia de la soya en México. Folleto técnico s/n*. Ciudad de México: Asociación Americana de la Soya (ASA).
11. ASA, 2017. *Una guía de referencia sobre hechos y cifras de soya. Estadísticas de la soya. Folleto técnico s/n*. Ciudad de México: Asociación Americana de la Soya (ASA).
12. Augustin, O. y Muñoz, E., 2006. Proteins and peptides in enteral nutrition. *Nutrición Hospitalaria*, 21, 1-13.
13. Axelsson, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. En: S. Salminen y A. Von Wright. eds. *Lactic Acid Bacteria*. Nueva York: Marcel Dekker, 1-72.
14. Bairy, E. M., Tosh, S. M., Corredig, M., Poysa, V., Woodrow, L. (2008). Varietal differences of carbohydrates in defatted soybean flour and soy protein isolate byproducts. *Carbohydrate Polymers*, 72, 664-672.
15. Bavia, A., Silva, C., Ferreira, M., Santos, R., Mandarino, J., Carrao, M. (2012). Chemical composition of tempeh from soybean cultivars specially developed for human consumption. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32(3), 613-614, 617-618.
16. Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). Legumes. En: H.D Belitz, W. Grosch, P. Schieberle. eds. *Food Chemistry*. Heidelberg: Springer-Verlag, 766-768.
17. Blandon, J., Cranfield, J., Henson, S. (2007). *Functional Food and Natural Health Product Issues: The Canadian and International Context*. [En línea] (Actualizado al 30 de octubre de 2007). Disponible en: [http://www5.agr.gc.ca/resources/prod/doc/misb/fb-ba/nutra/pdf/u\\_of\\_guelph\\_functional\\_foods\\_review\\_final\\_25jan2008\\_en.pdf](http://www5.agr.gc.ca/resources/prod/doc/misb/fb-ba/nutra/pdf/u_of_guelph_functional_foods_review_final_25jan2008_en.pdf) [Último acceso el 10 de abril de 2019].
18. Boo, J., Jin, J., Ho, P., Hee, L., Rak, L., Kyeong, L., Young, C., Doo, C., Lumen, B. (2007). Cancer-preventive peptide lunasin from *solanum nigrum* L. inhibits acetylation of core histones H3 and H4 and phosphorylation of

- retinoblastoma protein (Rb). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10707-10713.
19. Brandon, D. y Friedman, M., 2002. Immunoassays of soy proteins. *Journal Agriculture of Food Chemistry*, 50, 6635-6642.
  20. Cambero, M.I., Fernández, L., García, M.L., García, G.D., De la Hoz, L., Selgas, M.D. (1998). Leches fermentadas. En: J. A. Ordóñez. ed. *Tecnología de los alimentos. Volumen II Alimentos de origen animal*. Madrid: Editorial Síntesis S.A., 93-94, 98-103.
  21. Centro de Información Médica (CIM), 2017. *Beneficios de la salsa de soja*. [En línea] (Actualizado al 14 de diciembre de 2017). Disponible en: <https://www.saludconsultas.org/centro-informacion-medica/beneficios-salsa-soja/34303> [Último acceso el 7 de julio de 2019].
  22. Chandan, R.C., White, C.H., Kilara, A., Hui, Y.H. (2006). Health Benefits. Functional Foods and Disease Prevention. En: R.C. Chandan, C.H. White, A. Kilara, Y.H. Hui. eds. *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. Iowa: Blackwell Publishing, 321.
  23. Chen, H., Muramoto, K., Yamahuchi, F., Fujimoto, K., Nokihara, K. (1998). Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 49-53.
  24. Clare, D. y Swaisgood, H., 2000. Bioactive milk peptides: a prospectus. *Journal of Dairy Science*, 83, 1187-1195.
  25. Clare, D., Catignani, G., Swaisgood, H. (2003). Biodefense properties of milk: The role of antimicrobial proteins and peptides. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 1239-1255.
  26. Clemente, A., Moreno, F., Marín-Manzano, M., Jiménez, E., Domoney, C. (2010). The cytotoxic effect of Bowman-Birk isoinhibitors, IBB1 and IBBD2, from soybean (*Glycine max*) on HT29 human colorectal cancer cells is related to their intrinsic ability to inhibit serine proteases. *Molecular Nutrition & Food Research*, 5, 396-405.

27. Cortés, M., Chiralt, A., Puente, L. (2005). Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*, 12, 5-14.
28. Courtin, P., Monnet, V., Rul, F. (2002). Cell-wall proteinases PrtS and PrtB have a different role in *Streptococcus thermophilus*/ *Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148, 3413-3421.
29. Cuesta, E. 2018. *Beneficios salsa de soja y otras curiosidades*. [En línea] (Actualizado al 9 de febrero de 2018). Disponible en: <https://salsadesoja.com/curiosidades-salsa-soja/beneficios-salsa-de-soja/> [Último acceso el 7 de julio de 2019].
30. De Mejía, E. y Dña, V., 2010. The role of nutraceuticals proteins and peptides in apoptosis, angiogenesis, and metastasis of cancer cells. *Cancer and Metastasis Reviews*, 29, 511-528.
31. Deutsch, S., Molle, D., Gagnaire, V., Piot, M., Atlan, D., Lortal, S. (2000). Hydrolysis of sequenced  $\beta$ -casein peptides provides new insight into peptidase activity from thermophilic lactic acid bacteria and highlights intrinsic resistance of phosphopeptides. *Applied Environmental Microbiology*, 12, 5360-5367.
32. Díaz, D. 2017. *Todo sobre el miso: propiedades, beneficios y uso en la cocina*. [En línea] (Actualizado al 17 de octubre de 2017). Disponible en: <https://www.vitonica.com/alimentos-funcionales/todo-sobre-el-miso-propiedades-beneficios-y-uso-en-la-cocina> [Último acceso el 7 de julio de 2019].
33. Dietética Express Social Network (DESN), 2016. *¿Qué es la nattokinasa? Beneficios del natto en la salud*. [En línea] (Actualizado al 1 de junio de 2016). Disponible en: <http://www.clubsaludnatural.com/profiles/blogs/que-es-nattokinasa-beneficios-de-natto-en-la-salud> [Último acceso el 2 de junio de 2019].
34. Dinesh, P., Bhakayaraj, R., Vidhyalakshmi, R. (2009). A Low Cost Nutritious Food "Tempeh"- A Review. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 4(1), 22-25.

35. Doeven, M., Kok, J., Poolman, B. (2005). Specificity and selectivity determinants of peptide transport in *Lactococcus lactis* and other microorganisms. *Molecular Microbiology*, 57, 640-649.
36. Fajardo, V. y Varela, G., 2012. Beneficios de la soja en la menopausia. *Revista Española de nutrición comunitaria*, 18(2), 20-22.
37. Fang, Y., Yang, S., Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 10, 872-879.
38. FAO, 2007. *Report on Functional Foods*. F.Q. Washington D.C.: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
39. FAO, 2017. *Estadísticas de la soja 2009-2017*. Ciudad de México: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).
40. Fernández, A. 2012. Características de la soja como alimento. *Revista Española de nutrición comunitaria*, 18(2), 6, 9-10.
41. FitzGerald, R. y Murray, B., 2006. Bioactive peptides and lactic fermentations. *International Journal Dairy Technology*, 59, 118-125.
42. FitzGerald, R., Murray, B., Walsh, G. (2004). Hypotensive peptides from milk proteins. *Journal Nutrition*, 134, 980-988.
43. Foltz, M., Van der Pijl, P., Duchateau, G. (2010). Current *in vitro* testing of bioactive peptides is not valuable. *The Journal of Nutrition*, 140, 117-118.
44. Fu, C., Jez, J., Kerley, M., Allee, G., Krishnan, H. (2007). Identification, characterization, epitope mapping and three-dimensional modeling of the  $\alpha$ -subunit of  $\beta$ -conglucinin of soybean, a potential allergen for young pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 4014-4020.
45. García-Nebot, M., Recio, I., Hernández-Ledesma, B. (2014). Antioxidant activity and protective effects of peptide lunasin against oxidative stress in intestinal Caco-2 cells. *Food Chemistry Toxicology*, 65, 155-161.



46. Gasson, M. y De Vos, W., 1994. The proteolytic system of lactic acid bacteria. En: M. Gasson y W. De Vos. eds. *Genetics and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria*. Londres: Chapman y Hall, 169-210.
47. Globitz, P. 1995. Alimentos de soya nuevos e innovadores en el mercado. *Industria alimentaria*, 17(1), 27-29.
48. González, M., Vasconez, M., Lumen, B., Nelson, R. (2004). Lunasin concentration in different soybean genotypes, commercial soy protein, and isoflavone products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5882-5887.
49. Gran, B., Tabibzadeh, N., Martin, A., Ventura, E., Ware, J., Zhang, G., Parr, J., Kenned, A., Rostami, A. (2006). The protease inhibitor, Bowman-Birk Inhibitor, suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: a potential oral therapy for multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 12, 688-697.
50. Guo, M. 2009. Soy. En: M. Guo. ed. *Functional foods: principles and technology*. Florida: CRC Press LLC, 242-245, 253-259, 261-262, 272-273.
51. Hammond, E., Murphy, P., Johnson, L. (2003). Soy (soya) beans properties and analysis. En: B. Caballero, L. Trugo y P. Finglas. eds. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Londres: Academic Press, 5389-5392.
52. Han, B., Robert, M., Rombouts, F. (2015). *Sufu - a traditional Chinese fermented food*. Seúl: Korean Society of Food Science and Technology (KoSFoST).
53. Han, B., Rombouts, F., Robert, M. (2001). Review: A Chinese fermented soybean food. *International Journal of Food Microbiology*, 65, 1-5, 7-9.
54. Hancock, R. 2001. Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials. *Lancet Infectious Diseases*, 1, 156-164.
55. Hartmann, R. y Meisel, H., 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 163-169.

56. Hasim, H., Astuti, P., Falah, S., Faridah, D. (2015). *Bacillus subtilis natto* fermentation to improve aglycone isoflavones content of black soybean varieties detam 2. *International Food Research Journal*, 22(6), 2558, 2562-2563.
57. Hernández-Ledesma, B., Chia-Chien, H., Lumen, O. (2009). Lunasin and Bowman-Birk protease inhibitor (BBI) in US commercial soy foods. *Food Chemistry*, 115(2), 574-580.
58. Hernández-Ledesma, B., Hsieh, C., De Lumen, B. (2010). Relationship between lunasin's sequence and its inhibitory activity of histones H3 and H4 acetylation. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, 989-998.
59. Howlett, J. 2008. *Functional Foods. From Science to Health and Claims*. Bruselas: ILSI-Europa.
60. Hsieh, C., Hernández-Ledesma, B., De Lumen, B. (2010). Lunasin, a novel seed peptide, sensitizes human breast cancer MDA-MB-231 cells to aspirin-arrested cell cycle and induced apoptosis. *Chemico-Biological Interactions*, 186, 127-134.
61. Jeong, H., Park, J., Lam, Y., Lumen, B. (2003). Characterization of Lunasin isolated from soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7901-7906.
62. Jonckheere, N., Skrypek, N., Van Seuning, I. (2014). Mucins and tumor resistance to chemotherapeutic drugs. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1846, 142-151.
63. Juille, O., Le Bars, D., Juillard, V. (2005). The specificity of oligopeptide transport by *Streptococcus thermophilus* resembles that of *Lactococcus lactis* and not that of pathogenic streptococci. *Microbiology*, 151, 1987-1994.
64. Khee, C.R. 1993. *Tecnología para la producción de leche de soya*. Guatemala: Asociación Americana de la Soya (ASA).

65. Kim, S., Byun, H., Park, P., Shahidi, F. (2001). Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2992-2997.
66. Kitts, D. y Weiler, K., 2003. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 1309-1323.
67. Kiuchi, K. 2001. *Fermented Soybean Foods in Daily Life: Miso & Natto*. Tokyo: Food Culture.
68. Kobayashi, M., Nagatani, Y., Magishi, N., Tokuriki, N., Nakata, Y., Tsukiyama, R., Imai, H., Suzuki, M., Saito, M., Tsuji, K. (2006). Promotive effect of *Shoyu* polysaccharides from soy sauce on iron absorption in animals and humans. *International Journal of Molecular Medicine*, 18, 1159, 1163.
69. Korhonen, H. y Pihlanto-Leppälä, A., 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal*, 16, 945-960.
70. Kuba, M., Tanaka, K., Tawata, S., Takeda, Y., Yasuda, M. (2003). Angiotensin I-Converting enzyme inhibitory peptides isolated from tofuyo fermented soybean food. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 67(6), 1278-1283.
71. Kunji, E., Hagting, A., De Vries, C., Juillard, V., Haandrikman, A., Poolman, B., Konings, W. (1995). Transport of  $\beta$ -casein-derived peptides by the oligopeptide transport system is a crucial step in the proteolytic pathway of *Lactococcus lactis*. *Journal of Biology and Chemistry*, 270, 1569-1574.
72. Kunji, E., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., Konings, W. (1996). The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 187-221.
73. Kurmann, J., Rasic, J., Kroger, M. (1992). YOGHURT. En: J. Kurmann, J. Rasic, M. Kroger. eds. *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products. An international inventory of fermented milk, cream, buttermilk, whey, and related products*. New York: Van Nostrand Reinhold, 309-313.

74. Kuwabara, Y., Nagai, S., Yoshimitsu, N., Nakagawa, I., Watanabe, Y., Tamai, Y. (1995). Antihypertensive effect of the milk fermented by culturing with various lactic acid bacteria and yeast. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, 294-295.
75. Lajolo, F.M. 2003. Alimentos Funcionales: Aspectos Científicos y Regulatorios. *Dieta y Salud. Órgano informativo de Kellogg's sobre la relación entre la Nutrición y la Salud*, 1-7.
76. Lam, Y., Gálvez, A., De Lumen, B. (2003). Lunasin suppresses E1A-mediated transformation of mammalian cells but does not inhibit growth of immortalized and established cancer cell lines. *Nutrition and Cancer*, 47, 88-94.
77. Larralde, J., 2000. Las legumbres en la alimentación. En: B. Sanz. ed. *Alimentos y Salud*. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia.
78. Lavoie, J. y Sigmund, C., 2003. Minireview: Overview of the renin-angiotensin system-An endocrine and paracrine system. *Endocrinology*, 144, 2179-2183.
79. León, E., Jiménez, C., Dávila, G. (2015). Péptidos Bioactivos de Fuentes Vegetales: Un Nuevo Ingrediente para Alimentos Funcionales. En: M. Ramírez. ed. *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. Barcelona: OmniaScience, 44-47, 50-52, 54-62.
80. Leroy, F. y De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67-78.
81. Letrot, C. y Juillard, V., 2001. Development of a minimal chemically-defined medium for the exponential growth of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 1023-1029.
82. Link, R. 2018. *Natto: The fermented soy superfood*. [En línea] (Actualizado al 29 de agosto de 2018). Disponible en: <https://draxe.com/natto/> [Último acceso el 2 de julio de 2019].

83. Liu, K. 2008. Food Use of Whole Soybeans. En: L. Johnson, P. White, R. Galloway. eds. *Soybeans. Chemistry, Production, Processing and Utilization*. Illinois: AOCS Press- USB, 460, 468, 470.
84. Liu, K. S. 1997. *Soybean, chemistry, technology, and utilization*. New York: International Thomson Publishing.
85. Liyanage, R., Kyu-Ho, H., Watanabe, S., Shimada, K., Sekikawa, M., Ohba, K., Tokuji, Y., Ohnishi, M., Shibayama, S., Nakamori, T., Fukushima, M. (2008). Potato and soy peptide diets modulate lipid metabolism in rats. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 72(4), 943-950.
86. López-Fandiño, R., Otte, J., Van Camp, J. (2006). Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity. *International Dairy Journal*, 16, 1277-1293.
87. Losso, J. 2008. The biochemical and functional food properties of the Bowman-Birk inhibitor. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 94-118.
88. Lovati, M., Manzoni, C., Gianazza, E., Arnoldi, A., Kurowska, E., Carrol, K., Sirtori, C. (2000). Soy protein peptides regulate cholesterol homeostasis in Hep G2 cells. *The Journal of Nutrition*, 130, 2543-2549.
89. Lutz, M. 2008. Alimentos Funcionales: definiciones y precisiones conceptuales. *Nestlé Nutrition*, 33-41.
90. Maruyama, Y., Maruyama, N., Mikami, B., Utsumi, S. (2004). Structure of the core region of the  $\beta$ -conglycinin  $\alpha'$  subunit. *Acta Crystallographica*, 60, 289-297.
91. Meisel, H. 2005. Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1905-1919.
92. Menéndez, M.A. 2013. Alimentos Funcionales y Alimentos de Diseño. Los alimentos funcionales en el mercado. En: M.A. Menéndez. ed. *Los alimentos funcionales. Nuevos alimentos para un nuevo estilo de vida*. Asturias: Ediciones Trea y Fundación Alimerka, 79-81, 83-84.

93. Messina, M.J. 1994. Soy intake and cancer risk of the *in vitro* and *in vivo* data. *Nutrition Cancer*, 21, 113-131.
94. Mira, C. 2014. *Beneficios y usos de la salsa de soja*. [En línea] (Actualizado al 26 de mayo de 2014). Disponible en: <https://placeralplato.com/nutricion/beneficios-y-usos-salsa-de-soja> [Último acceso el 7 de julio de 2019].
95. Mizukami, O. 2012. *Miso*. Tokyo: Japan Miso Promotion Board.
96. Morán, J. 2009. Ingredientes funcionales: Tendencias en su adición a diferentes productos. *IX Congreso Peruano de Nutrición, Tradición y Globalización en la Cultura Alimentaria*, 1-123.
97. Motoshima, H., Shiraishi, T., Tsukasaki, F., Kaminogawa, S. (2003). Purification, characterization and gene cloning of lysil aminopeptidase from *Streptococcus thermophilus* YRC001. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 67, 772-782.
98. Moughan, P., Rutherford, S., Balan, P. (2013). Kiwifruit, mucins, and the gut barrier. *Advances in Food and Nutrition Research*, 68, 169-185.
99. Murakami, M., Tonouchi, R., Takahashi, H., Kitazawa, Y., Kawai, H., Negishi, T. (2004). Structural Analysis of a New Anti-Hypertensive Peptide Isolated from a Commercial Whey Product. *Journal of Dairy Science*, 87, 1967-1974.
100. Muro, C., Álvarez, R., Riera, F., Arana, A., Téllez, A. (2011). Review: Production and functionality of active peptides from milk. *Food Science and Technology International*, 17, 293-317.
101. Nishizawa, K., Kita, A., Doi, C., Yamada, Y., Ohionata, K., Yoshikawa, M., Ishimoto, M. (2008). Accumulation of the bioactive peptides, novokinin, LPYPR and rubiscolin, in seed of genetically modified soybean. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 72(12), 3301-3305.
102. Niven, G., Holder, S., Stroman, P. (1995). A study of the substrate specificity of aminopeptidase N from *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* Wg2. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 44, 100-105.

103. Nout, M. y Kiers, J., 2004. Tempeh as a Functional Food. En: K. Liu. ed. *Soybeans as Functional Foods and Ingredients*. Illinois: AOCS Press, 241-244.
104. Ohr, L. M., 2004. Powerhouse proteinic soy and whey have bright future. *Food Technology*, 58, 71-76.
105. Otte, J., Shalaby, S., Zacora, M., Pripp, A., El-Shabrani, S. (2007). Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of milk proteins hydrolysates: Effect of substrate, enzyme and time of hydrolysis. *International Dairy Journal*, 17, 488-503.
106. Park, J., Jeong, H., Lumen, B. (2005). Contents and bioactivities of Lunasin, Bowman-Birk inhibitor, and isoflavones in soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7686-7690.
107. Park, J., Jeong, H., Lumen, B. (2007). *In vitro* digestibility of the cancer-preventive soy peptides lunasin and BBI. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10703-10706.
108. Peña-Ramos, E., Xiong, Y., Arteaga, G. (2004). Fractionation and characterization for antioxidant activity of hydrolysed whey protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1908-1918.
109. Petre, A. 2017. *Why Miso Is Incredibly Healthy?* [En línea] (Actualizado al 17 de junio de 2017). Disponible en: <https://www.healthline.com/nutrition/why-miso-is-healthy> [Último acceso el 7 de julio de 2019].
110. Pihlanto, A. y Korhonen, H., 2015. Bioactive peptides from fermented foods and health promotion. En: W. Holzapfel. ed. *Advances in Fermented Foods and Beverages. Improving Quality, Technologies and Health Benefits*. Cambridge: Woodhead Publishing-Elsevier, 39-46, 50-54, 59-63.
111. Pihlanto-Leppälä, A. 2001. Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: opioid and ace inhibitory peptides. *Trends Food Science Technology*, 11, 347-356.
112. Piñeiro, E. 2009. *Las propiedades nutricionales del natto*. [En línea] (Actualizado al 31 de marzo de 2009). Disponible en:

<http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/tendencias/2009/03/31/184309.php> [Último acceso el 2 de julio de 2019].

113. Potter, S.M. 2000. Soy-new health benefits associated with an ancient food. *Nutrition Today*, 35(2), 53-60.
114. Riaz, M. N. 2006. *Soy Applications in Food*. Boca Ratón: CRC Taylor & Francis group.
115. Ridner, E. 2006a. La soja y su rol potencial en la prevención de enfermedades crónicas. En: E. Ridner. ed. *Soja. Propiedades nutricionales y su impacto en la salud*. Buenos Aires: Grupo Q S.A Sociedad Argentina de Nutrición, 37-50.
116. Ridner, E. 2006b. Valor nutricional de la soja. En: E. Ridner. ed. *Soja. Propiedades nutricionales y su impacto en la salud*. Buenos Aires: Grupo Q S.A Sociedad Argentina de Nutrición, 8, 15-18.
117. Rivera, D. 2009. El nuevo rostro de las golosinas. *Revista I Alimentos. La revista para la industria de alimentos*, 9, 54-56.
118. Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: the concept revisited. Effects of probiotics and prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 137, 839S-837S.
119. Rowland, I., Faughnan, M., Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G., Cassidy, A. (2003). Bioavailability of phytoestrogens. *British Journal of Nutrition*, 89, S45-S58.
120. Rul, F. y Monnet, V., 1997. Presence of additional peptidases in *Streptococcus thermophilus* CNRZ 302 compared to *Lactococcus lactis*. *Journal of Applied Microbiology*, 82, 695-704.
121. SAGARPA y SIAP, 2018. *Atlas Agroalimentario 2012-2018*. Ciudad de México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).



122. SAGARPA, 2017. Oleaginosas mexicanas: canola, cártamo, girasol, soya. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).
123. Saito, Y., Wanezaki, K., Kawato, A., Imayasu, I., (1994). Antihypertensive effects of peptide in sake and its by-products on spontaneously hypertensive rats. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 58, 812-816.
124. Sakudo, A. y Sesoko, M., 2013. Biomedical Reports: Tofuyo (fermented soybean food) extract prolongs the survival of mice infected with influenza virus. *ResearchGate*, 80.
125. Santos, A., Manzanares, C., Reyes, R., Hernández, A., Vallejo, B., González, A. (2018). Ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) producido por bacterias ácido lácticas en alimentos fermentados. *Interciencia*, 43(3), 175-176.
126. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007a. La soja, biología y agronomía. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J. Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 19-21, 25.
127. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007b. Alimentos derivados de la soja. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J. Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 36-37, 40-54.
128. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007c. Soja y Obesidad. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J. Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 105-106,109-111, 113, 116-117.
129. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007d. Papel de la soja en la hipercolesterolemia y en otros factores de riesgo cardiovascular. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J.

- Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 121-123, 125.
130. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007e. Soja y salud ósea. La osteoporosis. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J. Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 133-135, 137-138.
131. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007f. Soja y Menopausia. El punto de vista del especialista en endocrinología y nutrición. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J. Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 147-148.
132. Sanz, B., Herrera, E., Yuste, F. J., Haya, J., Krimperfort, L., Hernández, M., Riobó, P., Jiménez, R. 2007g. Soja y Cáncer. En: B. Sanz, E. Herrera, F.J. Yuste, J. Haya, L. Krimperfort, M. Hernández, P. Riobó, R. Jiménez. eds. *La Salud y la Soja*. Madrid: EDIMSA Editores Médicos S.A., 157, 160-161.
133. Sato, H. y Feix, J., 2006. Peptide-membrane interactions and mechanisms of membrane destruction by amphipathic  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides. *BBA Biomembranes*, 1758, 1245-1256.
134. Savijoki, K., Ingmer, H., Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 394-406.
135. SEGOB, 2010. *Normal Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación*. México: Secretaría de Gobernación (SEGOB).
136. Shin, R., Susuki, M., Mitutani, T., Susa, N. (2007). Improvement of experimentally induced hepatic and renal disorders in rats using Lactic Acid Bacteria-fermented soybean extract. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 6(3), 357-363.

137. Shurtleff, W. y Aoyagi, A., 2011. History of fermented tofu: 763 references in chronological order. En: W. Shurtleff y A. Aoyagi. eds. *History of fermented tofu- A healthy nondairy/vegan cheese (1610-2011). Extensively annotated bibliography and sourcebook*. California: Soyinfo Center, 235, 273.
138. Shurtleff, W. y Aoyagi, A., 2012a. History of natto and its relatives: 1934 references in chronological order. En: W. Shurtleff y A. Aoyagi. eds. *History of natto and its relatives (1405-2012). Extensively annotated bibliography and sourcebook*. California: Soyinfo Center, 23, 29, 41, 46, 85, 93, 125, 536, 557, 586.
139. Shurtleff, W. y Aoyagi, A., 2012b. Introduction and Brief Chronology. En: W. Shurtleff. ed. *History of natto and its relatives (1405-2012). Extensively annotated bibliography and sourcebook*. California: Soyinfo Center, 5, 7.
140. SINEC, 1996. *Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales. Diario Oficial de la Federación*. México: Sistema Integral de Normas y Evaluación de la Conformidad (SINEC).
141. Singh, K. y Bisetty, K., 2012. Molecular dynamics study of lunasin. *South African Journal of Chemistry*, 65, 115-124.
142. Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S. N., Bawa, A. S. (2008). Functional and Edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 14-28.
143. Slavin J., 1991. Nutritional benefits of soy protein and fiber. *Journal of the American Dietetic Association*, 91, 816-819.
144. Soria Natural Eficacia y Calidad (SNEC), 2014. *Miso ecológico*. Soria: Soria Natural, S.A.
145. Spreer, E. 1991. *Lactología industrial*. 2ª edición. Zaragoza: Acribia S.A.

146. Stiles, M. y Holzapfel, W., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal Food Microbiology*, 36, 1-29.
147. Suetsuna, K., Ukeda, H., Ochi, H. (2000). Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 11, 128-131.
148. Tamime, A.Y. y Robinson, R.K. 1991. Elaboración tradicional y recientes avances en el procesado del yogur. En: M.C Díaz y A. Rodríguez. eds. *Yogur. Ciencia y Tecnología*. Zaragoza: Acribia S.A., 222-225.
149. Tan, P., Sasaki, M., Bosman, B., Isawaki, T. (1995). Purification and characterization of a dipeptidase from *Lactobacillus helveticus* SBT2171. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 3430-3435.
150. Tanabe, H., Sugiyama, K., Matsuda, T., Kiriya, T., Morita, T. (2005). Small intestinal mucins are secreted in proportion to the settling volume in water of dietary indigestible components in rats. *Journal of Nutrition*, 135, 2431-2437.
151. Torres, M. L., 2012. Otros beneficios de la soja. *Revista Española de nutrición comunitaria*, 18(2), 40-43, 45-48.
152. Torres, N. y Tovar, A. R., 2009. La historia del uso de la soya en México, su valor nutricional y su efecto en la salud. *Salud Pública de México*, 51(3), 246-247.
153. Unger, T. 2002. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *American Journal of Cardiology*, 89, 3-10.
154. Urata, H., Boehm, K., Philip, A., Kinoshita, A., Gabrousek, J., Bumpus, F., Husain, A. (1993). Cellular localization and regional distribution of an angiotensin II-forming chymase in the heart. *Journal of Clinical Investigation*, 91, 1269-1281.
155. Vizcardo, D. y Zavala, J., 2016. Péptidos bioactivos: pequeños gigantes en salud. *Revista Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 29(4), 150-154.

156. Wei, L., Alhenc-Gelas, F., Corvol, P., Clauser, E. (1991). The two homologous domains of human angiotensin I-converting enzyme are both catalytically active. *Journal of Biological Chemistry*, 266, 9002-9008.
157. Wei-Yong, Z., Wei-Hua, C., Si-Xiang, Z. (2005). Separation of growth-stimulating peptides for *Bifidobacterium* from soybean conglycinin. *World Journal of Gastroenterology*, 11(37), 5801-5806.
158. Wilmont, B., 2004. *Composición del frijol de soya. Folleto técnico s/n.* México: Asociación Americana de la Soya (ASA).
159. Xie, C., Zeng, H., Li, J., Qin, L. (2018). Comprehensive explorations of nutritional, functional and potential tasty components of various types of Sufu, a Chinese fermented soybean appetizer. *Food Science and Technology*, 1-2.
160. Xu, B. y Chang, S., 2011. Reduction of antiproliferative capacities, cell-based antioxidant capacities and phytochemical contents of common beans and soybeans upon thermal processing soybeans. *Food Chemistry*, 129(3), 974-981.
161. Yasuda, M. 2011. Fermented Tofu, Tofuyo, Soybean. En: T. Ng. ed. *Biochemistry, Chemistry and Physiology*. Shanghai: IntechOpen, 299-301, 303-308, 312-315.
162. Young, V. R., 1991. Soy protein in relation to human protein and aminoacid nutrition. *Journal of the American Dietetic Association*, 91, 828-835.