



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**USO DE LA INULINA COMO SUSTITUTO DE GRASA EN
DERIVADOS LÁCTEOS**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

ANDREA FALCÓN PÉREZ



MÉXICO, D.F.

AÑO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: Marcos Francisco Baez Fernández**

VOCAL: **Profesora: Sandra Pérez Munguía**

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

1er. SUPLENTE: **Profesor: Jorge Arturo Aburto Anell**

2° SUPLENTE: **Profesor: Rodolfo Fonseca Larios**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ciudad Universitaria, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Juan Carlos Ramírez Orejel

SUSTENTANTE (S):

Andrea Falcón Pérez

2.1.3. Proceso de elaboración	34
2.2. Yogurt adicionado con inulina	37
2.2.1. Funcionalidad de la inulina en el yogurt	38
2.2.2. Efecto simbiótico	39
2.2.3. Cambios en la textura del yogurt	40
2.2.4. Otros cambios fisicoquímicos	41
2.2.5. Cambios sensoriales	44
2.2.6. Beneficios a la salud	45
Capítulo 3. El uso de la inulina como modificador de textura en queso	48
3.1. Queso	48
3.1.1. Definición y clasificación	48
3.1.2. Normatividad	49
3.1.3. Proceso de elaboración	51
3.2. Quesos adicionados con inulina	57
3.2.1. Funcionalidad de la inulina en el queso	57
3.2.2. Cambios en la textura del queso	60
3.2.3. Cambios en la reología del queso	63
3.2.4. Cambios sensoriales	63
3.2.5. Efecto simbiótico	64
3.2.6. Efecto en la concentración de ácido linoleico conjugado	66
Capítulo 4. El uso de inulina como sustituto de grasa en helado	68
4.1. Helado	68
4.1.1 Definición y materias primas	68
4.1.2. Normatividad	70
4.1.3. Proceso de elaboración de helado	71
4.2. Helado de yogurt	75
4.3. Helados adicionados con inulina	75
4.3.1. Funcionalidad de la inulina en el helado	76
4.3.2. Cambios en los parámetros fisicoquímicos y sensoriales	77

4.3.3. Helados con probióticos e inulina	79
Discusión general	83
Conclusiones	88
Referencias	90

Índice de Tablas

Tabla 1.1 Beneficios a la salud por el consumo de prebióticos	20
Tabla 1.2. Estudios de las propiedades prebióticas de la inulina y los FOS en humanos sanos	29
Tabla 1.3. Estudios sobre el efecto de los prebióticos en la absorción de calcio en humanos	30
Tabla 2.1. Especificaciones fisicoquímicas del yogurt	34
Tabla 3.1. Clasificación del queso basada en su composición	49
Tabla 3.2. Clasificación de quesos según las normas mexicanas	49
Tabla 3.3. Límites máximos de contenido microbiano para queso	51
Tabla 4.1. Límites máximos de contenido microbiano para helado	71

Índice de Figuras

Figura 1.1. Estructura de los fructanos	22
Figura 1.2. Estructura química de la inulina con un residuo terminal de glucosa	25
Figura 1.3. Proceso de obtención de la inulina	28
Figura 2.1. Proceso de elaboración de yogurt	36
Figura 2.2. Micrografía de yogurts reducidos en grasa adicionados con fructanos en diferente concentración	43
Figura 2.3. Micrografía de yogurts reducidos en grasa adicionados con Inulina en diferente concentración	44
Figura 3.1. Proceso de elaboración de queso	55
Figura 3.2. Elaboración de quesos procesados	56
Figura 3.3. Microscopía electrónica de quesos con diferente concentración de grasa e inulina	61
Figura 4.1. Proceso de elaboración de helado	74

Lista de abreviaturas

°C-	Grados Celsius
°D-	Grados Dornic
CaCl ₂ -	Cloruro de calcio
CLA-	Ácido linoleico conjugado
DP-	Grado de polimerización
ENSANUT-	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FAO-	Food and Agriculture Organization
FDA-	Food and Drug Administration
FOS-	Fructooligosacáridos
g-	Gramos
GRAS-	Generally Recognized as Safe
h-	Horas
kcal-	kilocalorías
L-	Litros
mL-	mililitros

MPa-	Mega Pascales
NOM-	Norma Oficial Mexicana
OCDE-	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
s-	Segundos
SEM-	Scanning Electron Microscope
ST-	Sólidos totales
T-	Temperatura
t-	Tiempo
UFC-	Unidad Formadora de Colonia

Resumen

La inulina es un carbohidrato no digerible que actúa como prebiótico, al estimular el crecimiento o la actividad de una o más poblaciones de bacterias que residen en el colon, principalmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Los alimentos funcionales, como los prebióticos, son consumidos como parte normal de la dieta y tiene la función básica de proveer energía, pero además de ésta, tienen beneficios fisiológicos y/o de reducción de enfermedades.

El uso de inulina en derivados lácteos tiene por objetivo disminuir el contenido total de grasa del producto, manteniendo las características fisicoquímicas y sensoriales óptimas y, adicionalmente, puede ejercer un efecto simbiótico con bacterias propias del producto. Encontrar un ingrediente capaz de sustituir parcial o totalmente la grasa de un producto alimenticio es de gran importancia a nivel nutricional, sobre todo en un país con problemas de sobrepeso y obesidad, como es México.

Con la adición de inulina en yogurt, se ha observado que la firmeza y la consistencia aumentan significativamente, sin haber afectaciones a nivel sensorial. El yogurt se considera una matriz alimentaria adecuada para lograr un efecto simbiótico, además de servir de sustituto de grasa.

El queso adicionado con inulina busca compensar los cambios que se suscitan por la remoción de la grasa, como son cambios reológicos, de textura, funcionales y sensoriales.

La inulina es particularmente utilizada como sustituto de grasa en productos como el helado, debido a su capacidad para formar geles, proveer buen cuerpo, textura y palatabilidad; además de tener un sabor neutral y estar aceptado como un agente texturizante de bajo aporte calórico.

Introducción

Un alimento funcional o “nutracéutico” es consumido como parte normal de la dieta y tiene la función de proveer energía, pero además de esta función básica, tiene beneficios fisiológicos y/o de reducción de enfermedades (Guo, 2009). La percepción de salud ha ido cambiando, de tal forma que ahora se recalca la importancia de regular la dieta para prevenir y modular problemas en el estilo de vida, en vez de buscar tratamientos; es decir, se basa en la prevención más que en la cura (Baboota *et al.*, 2013).

La inulina es un carbohidrato no digerible, que beneficia a la salud del huésped, al estimular el crecimiento o la actividad de una o más poblaciones de bacterias que residen en el colon (Saad *et al.*, 2013). El uso de inulina en derivados lácteos tiene por objetivo, por un lado disminuir el contenido total de grasa del producto, manteniendo las características fisicoquímicas y sensoriales óptimas y por otro lado ejercer un efecto simbiótico con bacterias propias del producto, como el caso del yogurt o helado adicionados con probióticos.

Encontrar un ingrediente capaz de sustituir parcial o totalmente la grasa de un producto alimenticio es de gran importancia a nivel nutricional, sobre todo en un país con problemas de sobrepeso y obesidad, como es México. El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. A nivel mundial, en 2014, el 39% de los adultos de 18 años o más tenían sobrepeso y el 13% eran obesos (OMS, 2015). El panorama es aún más grave en México, pues de acuerdo a la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos) la tasa de obesidad en adultos ha ido en aumento en los últimos años; de 24.2% en el año 2000 a 32.4% en el 2012. México presenta la segunda tasa más alta de los países de la OCDE, superado sólo por Estados Unidos.

La ingesta de alimentos con alto aporte calórico y la nula actividad física son factores que se relacionan con el sobrepeso y la obesidad. Estas condiciones se desarrollan generalmente en la infancia y en la adolescencia y si se mantienen en la adultez; constituyen uno de los principales factores de riesgo en el incremento de padecimientos cardiovasculares, diabetes mellitus, artrosis y algunos tipos de cáncer. Además, la obesidad infantil se asocia con una mayor probabilidad de muerte prematura o de presentar problemas de discapacidad en la edad adulta (INEGI, 2010).

La leche entera de vaca tiene un contenido alto de grasa total, de 30 gramos por litro como mínimo, de la cual 65% corresponde a los ácidos grasos saturados. De acuerdo a un estudio derivado de la ENSANUT, en 2006, la leche y sus derivados son la tercera fuente de ácidos grasos saturados de la dieta mexicana (Ramírez et al., 2006 en Rivera *et al.*, 2014). Los lácteos bajos en grasa se han descrito como parte de un patrón saludable de alimentación por sus múltiples beneficios a la salud (Rivera *et al.*, 2014).

Debido a esta problemática actual, resulta útil presentar las aplicaciones de este ingrediente funcional capaz de sustituir grasa, generando así productos con todos los beneficios nutrimentales de los derivados lácteos y con un contenido de grasa menor al usual. Así, se tendrá un panorama general de los cambios fisicoquímicos y sensoriales que se dan en algunos de los productos de mayor consumo y se conocerán los resultados de experimentos que han probado el uso de inulina en productos como yogurt, queso y helado.

Objetivos

Presentar información de los últimos 5 años acerca de las investigaciones que se han realizado en los últimos años en cuanto al uso de la inulina como reemplazo de grasa en derivados lácteos, principalmente yogurt, queso y helado.

Exponer un panorama general de los alimentos funcionales, contemplando su historia, definiciones y clasificaciones propuestas; situar a la inulina en el lugar que ocupa en estas clasificaciones y detallar sus características estructurales y fisicoquímicas, así como los usos que puede tener en la industria de alimentos.

Comparar entre sí los trabajos de investigación recopilados, contrastando los puntos en los que difieran y resaltando los resultados similares que se hayan obtenido, con el fin de buscar concluir sobre los efectos observados en los derivados lácteos adicionados con inulina. Hacer hincapié en los resultados obtenidos en cuanto a características fisicoquímicas y sensoriales de los productos, en comparación con un control, así como el efecto que se observe en cuanto a la supervivencia de bacterias probióticas presentes en algunos de estos productos.

Se espera que este trabajo sea de utilidad para académicos o estudiantes que se interesen en el tema de los alimentos funcionales en general y de la inulina en particular; además de servir como punto de partida para probar experimentalmente la adición de inulina en productos alimenticios en México, pues la situación de salud actual en el país exige el desarrollo de alternativas que permitan disminuir el aporte calórico de los alimentos.

Capítulo 1. Alimentos funcionales: La inulina como ingrediente funcional

1.1. Definición y clasificación de alimentos funcionales

Al igual que un alimento convencional, un “alimento funcional” o “nutracéutico” tiene la función de proveer energía y es consumido como parte normal de la dieta, pero su función va más allá de la nutrición básica, pues tiene beneficios fisiológicos y/o reduce el riesgo de enfermedades crónicas (Guo, 2009).

El término “alimento funcional” fue utilizado por primera vez por científicos japoneses la década de 1970 y se introdujo a Europa en los años 80's y a América en los 90's (Guo, 2009). Desde entonces se ha definido en diversas ocasiones y aún no existe una definición única aceptada para este grupo de alimentos. En la mayoría de los países, tampoco existe una definición legal del término, ni una clara división entre los alimentos convencionales y los funcionales (Bigliardi & Galati, 2013).

Bigliardi y Galati, en 2013, revisaron 39 definiciones del término “alimento funcional” y encontraron 3 principales conceptos, que se encontraban presentes en la mayoría de las definiciones analizadas: 1) un alimento debe proveer beneficios a la salud para ser etiquetado como funcional; 2) el alimento debe ser enriquecido, fortificado, o añadido con ingredientes, o puede que se remuevan alérgenos o componentes dañinos para la salud y 3) el alimento debe tener funciones nutricionales.

Los alimentos funcionales se han desarrollado en casi todas las categorías de alimentos, principalmente en lácteos, confitería, bebidas, panadería y alimentos para bebés. Kotilainen (2006) propuso la siguiente clasificación para los alimentos funcionales:

-Alimentos fortificados, con mayor proporción de un nutriente que normalmente se encuentra en ese alimento, por ejemplo, jugos de fruta a los que se añaden vitamina C, vitamina E, ácido fólico, zinc y calcio.

-Alimentos enriquecidos, con componentes que normalmente no se encuentran en ese alimento, como es el caso de los probióticos y prebióticos.

-Alimentos en los que se ha removido, reducido o reemplazado un componente por otro con efectos benéficos, como la utilización de fibra como sustituto de grasa en carne y helado.

-Alimentos cuyos componentes se han mejorado de manera natural, por ejemplo, huevo con un incremento en el contenido de omega 3.

Existen clasificaciones alternas, como la propuesta por Makinen-Aakula (2006):

-Alimentos funcionales que mejoran la vida, como prebióticos y probióticos.

-Alimentos funcionales que reducen un riesgo a la salud existente, como el colesterol o la presión arterial elevada.

-Alimentos funcionales que “hacen la vida más sencilla”, como los productos libres de lactosa o gluten (Bigliardi & Galati, 2013).

Existen 3 principales grupos de ingredientes funcionales: Probióticos (microorganismos), prebióticos (compuestos como fibra) y antioxidantes. El interés en todos ellos ha ido en aumento en el mercado de los alimentos funcionales. (Saad *et al.*, 2013)

1.2. Efectos benéficos de los alimentos funcionales

Un adecuado balance entre bacterias benéficas y patógenas en el intestino determina la salud del colon de un individuo; aunque esto depende de factores como la edad, género y genética, y condiciones ambientales, como estrés, ingesta de drogas o agentes tóxicos y haber tenido alguna cirugía. Compuestos como ácidos grasos, carbohidratos, micronutrientes, prebióticos y probióticos, pueden generar cambios en la composición de la flora del intestino y en la expresión de

genes en el colon, el intestino delgado, el hígado, tejido adiposo y tejido muscular (Baboota *et al.*, 2013).

Debido a que actualmente se tiene un mayor conocimiento acerca del papel que juegan algunos grupos de bacterias patógenas en el intestino y su influencia en los procesos metabólicos del huésped, se ha visto la importancia que puede tener incluir en la dieta ingredientes funcionales, los cuales modulen de manera benéfica a la flora intestinal (Baboota *et al.*, 2013).

Recientemente se recalca la importancia de regular la dieta para prevenir y modular problemas en el estilo de vida, en vez de buscar tratamientos. Se apela a la prevención más que a la cura. Por ello se ha concedido valor al desarrollo de ingredientes funcionales, como polifenoles, fibras dietéticas, proteínas y prebióticos (Baboota *et al.*, 2013).

Cada vez más consumidores están adquiriendo conciencia acerca de la existencia de los alimentos funcionales, con la esperanza de obtener beneficios adicionales a su salud y reducir el riesgo de padecer enfermedades al incluirlos en su dieta. Los beneficios a la salud que se obtienen por el consumo de alimentos funcionales, se pueden dividir en tres categorías: Beneficios directos a la salud, reducción en el riesgo de padecer enfermedades y mejora en las condiciones de vida (Bigliardi & Galati, 2013).

Estudios epidemiológicos y experimentos clínicos han confirmado o al menos sugerido, la existencia de muchos beneficios a la salud atribuidos al consumo de alimentos funcionales. Entre estos beneficios se encuentran: reducción del riesgo de padecer cáncer (Ito *et al.*, 1990; Burns & Rowland, 2000; McBain & Macfarlane, 2001; Bornet *et al.*, 2002), mejora de la salud del corazón, fortalecimiento del sistema inmune y la salud gastrointestinal (Saarela *et al.*, 2002; Alzamora *et al.*, 2005; Jones & Jew, 2007), reducción de los síntomas de la menopausia (Keller, 2006), efectos antiinflamatorios (Vinolo *et al.*, 2011), disminución de la presión

sanguínea (Surai & Sparks, 2001; Sirò *et al.*, 2008), protección de la visión (Keller, 2006), actividad antibacterial y antiviral (Kondepudi *et al.*, 2012), disminución de la osteoporosis (Holloway *et al.*, 2007) e influencias anti obesidad (Babio *et al.*, 2010; Arora *et al.*, 2011).

1.3. Ingredientes funcionales utilizados en alimentos

1.3.1. Prebióticos

La definición original de prebióticos fue propuesta por Gibson y Roberfroid en 1995. De acuerdo a ésta, los prebióticos son carbohidratos presentes en la dieta, no digeribles, que afectan benéficamente la salud del huésped, al estimular el crecimiento o la actividad de una o más poblaciones de bacterias que residen en el colon, principalmente lactobacilli y bifidobacteria (Saad *et al.*, 2013). Se trata de carbohidratos de cadena corta, que no pueden ser digeridos por las enzimas digestivas en humanos (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

La FAO (Food Agriculture Organization) propuso una definición más amplia en 2007: 'Un prebiótico es un componente alimenticio no viable que confiere al huésped un beneficio a la salud, asociado con la modulación de la microbiota'. De acuerdo a esta definición, componentes de la dieta que no sean carbohidratos no digeribles están contemplados, por lo que glicomacropéptidos derivados de la κ -caseína y nucleótidos presentes en la leche materna, capaces de modular la microbiota del colon del recién nacido, pueden ser incluidos como prebióticos en esta definición (Brunser & Gotteland, 2010). Hasta el momento, todos los prebióticos que han sido descritos son carbohidratos con un grado de polimerización de entre 2- 60, y no son digeribles por enzimas humanas o animales (Saad *et al.*, 2013). Recientemente, Gibson *et al.*, (2010) definen a los prebióticos como ingredientes fermentados selectivamente, que resultan en cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal, concediendo así beneficios al huésped.

La FAO indica que los prebióticos pueden encontrarse en forma de fibra dietética, pero no toda la fibra dietética necesariamente es prebiótica. Además, los efectos promotores de la salud no pueden deberse a la absorción del componente en el torrente sanguíneo, ni a que actúen por sí mismos; la actividad metabólica o la composición de la microbiota del huésped, debe ser modulada por la presencia del componente dietético o la formulación en la que se encuentra (Brunser & Gotteland, 2010).

Para que un carbohidrato no digerible se pueda considerar prebiótico, debe cumplir con 3 criterios: 1) resistencia a la acidez gástrica y a enzimas mamíferas, 2) susceptibilidad a la fermentación por parte de las bacterias del intestino, y 3) habilidad para aumentar la viabilidad y/o actividad de los microorganismos benéficos (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

Los prebióticos transitan por el intestino delgado y llegan al intestino grueso, donde se vuelven accesibles para las bacterias probióticas, sin que hayan sido utilizados por otras bacterias intestinales. Al final del metabolismo de carbohidratos, se obtienen ácidos grasos de cadena corta, particularmente ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico; todos ellos son utilizados por el huésped como fuente de energía (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

Para que sea efectivo, el prebiótico debe llevar a cabo una fermentación selectiva, de tal forma que la composición de la microbiota del intestino delgado se altere, formando una comunidad más saludable. Mejorar la flora del colon se logra, ya sea mejorando el metabolismo de bacterias *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, o eliminando la virulencia de microorganismos patógenos (Gibson & Fuller, 1998).

1.3.1.1. Fuente y producción

Los prebióticos se pueden encontrar de manera natural en varios alimentos, como espárragos, achicoria, alcachofa, cebolla, ajo, plátano, tomate y trigo; además de ser un constituyente natural de la leche materna (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

Los poli y oligosacáridos se encuentran ampliamente disponibles en la dieta. Principalmente, se encuentran en vegetales que se consumen regularmente, donde constituyen una reserva energética para el momento de la germinación. Algunos oligosacáridos con actividad prebiótica también pueden encontrarse en la leche de algunos mamíferos. La quitina, encontrada en el exoesqueleto de crustáceos, insectos y algunos hongos, es considerado el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa (Brunser & Gotteland, 2010).

La mayoría de los oligosacáridos prebióticos que se han identificado hasta el día de hoy, se obtienen por extracción de plantas, como la achicoria, seguido de una hidrólisis enzimática; o por síntesis química, por medio de reacciones de transglicosilación de mono y disacáridos (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

Los prebióticos más utilizados en la elaboración de productos alimenticios son los fructanos (inulina y fructooligosacáridos) y los galactooligosacáridos. Todos ellos son considerados GRAS (Generally Recognized As Safe), lo que significa que la FDA reconoce que no son dañinos para la salud y que su uso en alimentos está aprobado (Brunser & Gotteland, 2010).

1.3.1.2. Beneficios a la salud

Los beneficios de la ingesta de prebióticos se asocian a la optimización de la función y metabolismo del colon. Entre estos beneficios, están: el cambio en la composición de ácidos grasos de cadena corta, el aumento de materia fecal, la reducción del pH del colon, la disminución de productos nitrogenados y enzimas

reductivas, y modulación del sistema inmune y el metabolismo de minerales (Bournet *et al.*, 2002). En la Tabla 1.1 se encuentran listados algunos de los beneficios del consumo de prebióticos.

Beneficio del consumo de prebióticos	Referencia
Disminución de los niveles de glucosa en sangre	(Rumessen <i>et al.</i> , 1990)
Estimulación selectiva de bacterias benéficas	(Gibson & Roberfroid, 1995)
Alivio del estreñimiento	(Kleessen <i>et al.</i> , 1997)
Prevención de la adhesión de microorganismos patógenos	(Dai <i>et al.</i> , 2000)
Mejora la absorción de minerales	(Van den Heuvel Muys <i>et al.</i> , 1999; Cholz-Ahrens <i>et al.</i> , 2007)
Reducción del riesgo de cáncer de colon	(Sauer <i>et al.</i> , 2007; Allsopp <i>et al.</i> , 2013)
Disminución de los niveles de triacilglicerolos en suero sanguíneo	(Brighenti, 2007)
Estimulación del sistema inmune	(Lomax & Calder, 2009; Vogt <i>et al.</i> , 2013)
Incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta	(Tarini & Wolever, 2010)
Inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos	(Ortega-González <i>et al.</i> , 2014)

Tabla 1.1. Beneficios a la salud por el consumo de prebióticos. (Peshev & Van den Ende, 2014)

Los prebióticos han mostrado elevar los niveles de bifidobacterias en mujeres obesas, aunque no está claro si manipulando la población de microorganismos del intestino se puede tener un impacto en la obesidad (Dewulf *et al.*, 2012). Cani *et al.*, (2009) encontraron que los prebióticos de tipo fructano pueden influir en la saciedad en humanos y Parnell & Reimer (2009) que podían regular el apetito en personas con sobre peso, al ejercer influencia en la regulación hormonal.

1.3.1.3. Uso de prebióticos en la industria alimenticia

La producción de alimentos que contienen ingredientes prebióticos se ha convertido en un área de oportunidad en la industria alimenticia en los últimos años; es un mercado prometedor debido a cuestiones económicas y a la evidencia científica sobre los beneficios que aportan (Burgain *et al.*, 2011). Con la intención

de satisfacer este nuevo mercado, los prebióticos, principalmente inulina y fructooligosacáridos, se han incorporado a una amplia gama de alimentos y bebidas (Coman *et al.*, 2012).

La utilización de prebióticos como ingredientes alimenticios presenta grandes ventajas, ya que mejoran las características sensoriales del producto y proveen una composición nutrimental mejor balanceada. Se utilizan en panadería, cereales y botanas para dar mayor frescura y prolongar su vida de anaquel. También pueden incorporarse a sistemas líquidos, como bebidas y derivados lácteos, gracias a su solubilidad (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

Los prebióticos también son útiles para sustituir grasa en los alimentos. Los prebióticos disminuyen el efecto calórico de los productos y pueden utilizarse para resolver algunos de los problemas físicos y sensoriales que se originan por la disminución de grasa en un producto alimenticio. La adición de prebióticos permite el reemplazo de una cantidad considerable de grasa y el mantenimiento de la emulsión en el producto, gracias a sus propiedades gelificantes (Al-Sheraji *et al.*, 2013).

1.3.1.4. Efecto simbiótico con probióticos

La FAO define a los probióticos como microorganismos vivos que, cuando se administran en una dosis adecuada, confieren beneficios a la salud del huésped. Al colonizar el intestino de humanos y animales, los probióticos promueven la salud gastrointestinal. Las cepas probióticas incluyen especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*. La combinación de probióticos con prebióticos se conoce como una combinación simbiótica, pues se duplican los beneficios de ambos ingredientes (Baboota *et al.*, 2013).

1.3.2. Fructanos

Entre los prebióticos más conocidos, se encuentran los fructanos, que son oligo y polisacáridos derivados de fructosa, los cuales se acumulan en alrededor del 15% de las plantas de floración. Los fructanos derivados de plantas son compuestos solubles en agua, directamente derivados de la sacarosa (Peshev & Van den Ende, 2014). La otra fuente de fructanos que existe, es un amplio espectro de bacterias y un número limitado de hongos (Ulloa et al., 2010). Los fructanos se pueden clasificar en dos grandes grupos: Los tipo inulina y los tipo levana (Figura 1.1). Los fructanos tipo inulina tienen en su mayoría o exclusivamente enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosilfructosa, mientras que los fructanos tipo levana tienen en su mayoría o exclusivamente enlaces β -(2 \rightarrow 6) fructosilfructosa. Ambas son moléculas esencialmente lineales, aunque puede ocurrir un pequeño grado de ramificación (Conceição et al., 2014).

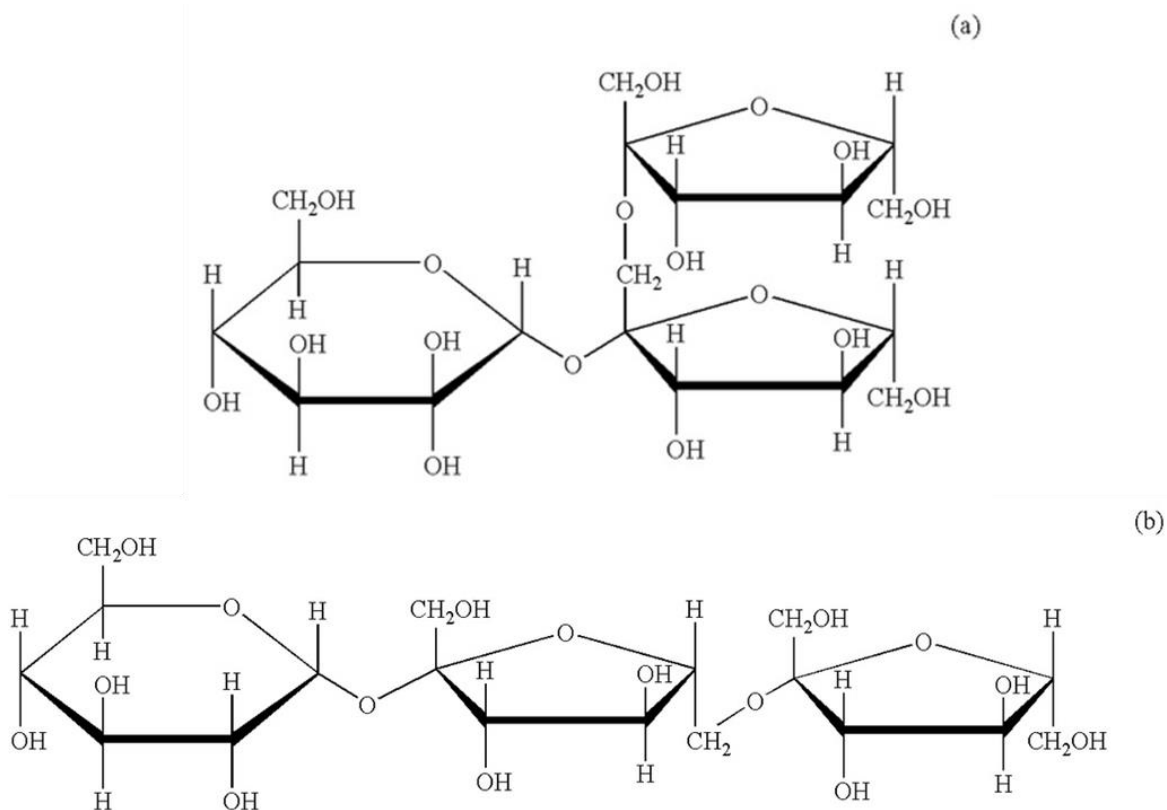


Figura 1.1. Estructura de los fructanos a) tipo inulina, b) Tipo levana (Hann y Lentz, 2006)

Los fructanos prebióticos no son digeribles, aunque pueden ser sujetos a hidrólisis menor en el estómago, debido a su sensibilidad al ácido. No se pueden digerir porque el sistema digestivo humano carece de las enzimas adecuadas para hidrolizar los enlaces β propios de estas moléculas. Sin embargo, la microbiota presente en el colon sí es capaz de degradar estos enlaces. La fermentación de los fructanos y la disminución de pH cambian el ambiente del colon, situación que estimula el crecimiento de bacterias benéficas, como bifidobacterias y lactobacilos (Peshev & Van den Ende, 2014).

Los fructanos se han asociado a funciones benéficas para la salud. La primera es su reconocimiento como prebiótico, pues su presencia promueve el crecimiento de bifidobacterias en el colon y la fermentación de fructanos del tipo oligofruktosa e inulina generan ácidos grasos de cadena corta, los cuales estimulan el crecimiento de las células de la mucosa colorrectal, retrasando la atrofia de la mucosa y disminuyendo el riesgo de transformación maligna en el colon. Los fructanos, sobre todo la inulina, también fungen como promotores potenciales de la absorción de minerales, como el calcio y el magnesio. Participan en los mecanismos de defensa, con la modulación de la estructura, composición y actividad de la mucosa y la microflora intestinal, aumentando la resistencia a la colonización con el cambio en la morfología de la mucosa. Los fructanos del tipo inulina afectan el metabolismo de lípidos, a través de la disminución de la trigliceridemia y colesterolemia y en la prevención de enfermedades, como estreñimiento, diarrea, aterosclerosis, osteoporosis, obesidad, diabetes tipo 2, síndrome del intestino irritable y cáncer de colon inducido químicamente (Tabla 1.1) (Ulloa *et al.*, 2010).

1.3.3. Inulina

Los fructanos de tipo inulina son polímeros de fructosa, solubles en agua, que son resultado del metabolismo extendido de la sacarosa, y que se encuentran en las

plantas, almacenados en hojas y otros órganos, actuando como carbohidrato de reserva, participando en la osmorregulación y protegiendo a la planta de deshidratación (Conceição *et al.*, 2014). Se trata de un carbohidrato no digerible, que ha sido parte de la dieta humana por varios siglos, pues está presente en vegetales, frutas y cereales consumidos regularmente, como poro, cebolla, ajo, trigo, achicoria, alcachofa y plátano. Tiene grandes aplicaciones en las industrias farmacéutica y alimentaria, debido a que presenta propiedades nutricionales interesantes y beneficios tecnológicos importantes (Franck & De Leenheer, 2005). Es un sustituto de azúcar y grasa, al tener un valor calórico muy bajo e incrementar la estabilidad de espumas y emulsiones; actúa de manera similar a la fibra dietética y contribuye a mejorar las condiciones del sistema gastrointestinal. Fue descubierto por el científico alemán Valentine Rose a principios del siglo XIX y nombrado inulina por Thomson en 1817 (Conceição *et al.*, 2014).

La inulina es el fructano mejor conocido y el más estudiado. Para su obtención, se extrae de plantas, teniendo precaución de inhibir la inulinasa presente en la planta y prevenir la hidrólisis ácida (Conceição *et al.*, 2014). La achicoria (*Chicorium intybus*) es la principal cosecha utilizada para la producción industrial de inulina y en segundo lugar se utiliza la pulpa de alcachofa (*Helianthus tuberosus*) (Franck & De Leenheer, 2005).

1.3.3.1. Estructura química

Los fructanos tipo inulina tienen en su mayoría o exclusivamente enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosilfructosa. Son moléculas esencialmente lineales, aunque puede ocurrir un pequeño grado de ramificación (Figura 1.2) (Conceição *et al.*, 2014). Estos enlaces no pueden ser hidrolizados por enzimas digestivas humanas, por lo que llega sin metabolizarse hasta el colon, donde es fermentada por las bacterias intestinales. Pueden contener una fracción de glucosa al inicio, aunque no necesariamente. En la inulina procedente de la achicoria, el número de fructosas va de 2 a 70, por lo que se trata de una mezcla de oligómeros y polímeros. El grado de polimerización

(DP, por sus siglas en inglés) es bajo, menor de 200, variando según la especie de planta, condiciones fisiológicas y climatológicas y están presentes de manera natural, moléculas de fructosa, sacarosa, glucosa y pequeños oligosacáridos. La inulina disponible de manera comercial tiene un grado de polimerización promedio de 27 a 29 y no presenta cadenas con menos de 10 unidades. Además de plantas, la inulina también se encuentra de manera natural en bacterias del tipo *Streptococcus mutans*, pero no se tiene certeza de su linealidad (Franck & De Leenheer, 2005).

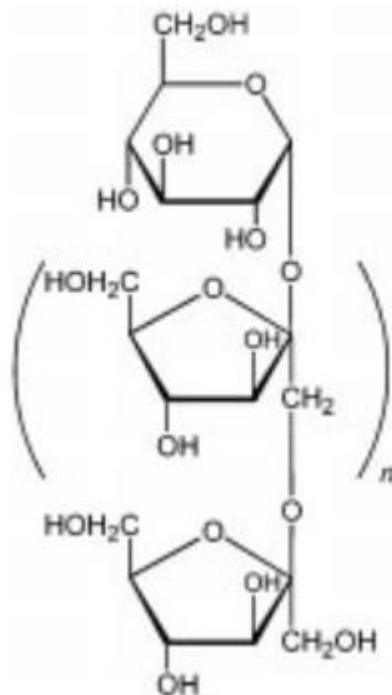


Figura 1.2. Estructura química de la inulina con un residuo terminal de glucosa.

DP= n+2, n= 1-60 para inulina de achicoria (Meyer & Blauwhoed, 2009).

1.3.3.2. Propiedades fisicoquímicas y funcionales de la inulina

La inulina de achicoria está disponible como un polvo blanco, sin olor, sin sabor y ligeramente dulce (10% del dulzor de la sacarosa). Es moderadamente soluble en agua y estable a valores de pH mayores de 4; por debajo de éste es susceptible a hidrólisis. No modifica las notas lácteas y potencializa los aromas frutales (Franck

& De Leenheer, 2005). Es estable a temperaturas de hasta 140°C en disolución a pH neutro y temperaturas aún mayores si se encuentra en forma de polvo (Meyer & Blaauwhoed, 2009).

Las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la inulina se relacionan al grado de polimerización (DP), así como a la presencia de ramificaciones. La fracción de cadena corta, oligofruktosa, es mucho más soluble y dulce que la fracción nativa, inulina de cadena larga, por lo que puede contribuir a mejorar la palatabilidad, al tener propiedades similares a la sacarosa. La fracción de cadena larga es menos soluble, más viscosa y más termoestable, lo que puede contribuir a las propiedades reológicas y sensoriales de productos lácteos, como sustituto de grasa en productos reducidos en este componente. Las propiedades de fusión, capacidad de formación de gel y fuerza del gel también dependen del grado de polimerización (Conceição *et al.*, 2014). Las cadenas más largas exhiben mejores propiedades como estabilizantes y para reemplazar grasa, mientras que las cadenas cortas tienen propiedades tecnológicas similares a los jarabes de glucosa y fructosa (Franck & De Leenheer, 2005).

A mayores concentraciones, la inulina presenta propiedades gelificantes, debido a su capacidad de atrapar agua. Sin embargo, como la molécula de inulina es más pequeña que algunos hidrocoloides, tiene una menor capacidad de atrapar agua que éstos. La concentración de inulina debe ser de al menos 15% para que tenga propiedades gelificantes; concentraciones menores generan soluciones acuosas de baja viscosidad (Meyer & Blaauwhoed, 2009).

Debido al elevado número de grupos hidroxilo presentes en la molécula de inulina, ésta puede influenciar en la solubilidad de otros agentes gelificantes, como goma guar, goma xantana, carragenina, alginato, pectina, maltodextrina y almidón. La competencia por el agua puede ocasionar retraso en el desarrollo de la viscosidad, mayor viscosidad, un gel más quebradizo, un flujo más suave y reducción en la sinéresis (Meyer & Blaauwhoed, 2009).

La inulina también puede optimizar las propiedades reológicas de los polisacáridos mencionados (Meyer & Blaauwloed, 2009). El comportamiento reológico de la inulina y mezclas de hidrocoloides en agua fue caracterizado en 1998, encontrándose un efecto sinérgico entre la inulina y el alginato de calcio, así como una interacción negativa entre la inulina y el almidón, probablemente porque ambos tienen una gran afinidad por el agua (Bishay, 1998 en Meyer *et al.*, 2011).

La inulina puede actuar como un buen reemplazo de grasa en diferentes derivados lácteos. La habilidad de la inulina para actuar como reemplazo de grasa no se relaciona únicamente a la modificación del comportamiento reológico o la dureza del producto, sino que también provoca cambios en atributos sensoriales, como palatabilidad, cremosidad y suavidad. Para obtener productos bajos en grasa con características similares a los productos no modificados, es necesario añadir concentraciones de inulina mayores a las necesarias para simular la cremosidad (Meyer *et al.*, 2011).

1.3.3.3. Producción

La producción de inulina a partir de la achicoria involucra 2 etapas. La primera etapa es similar al proceso de obtención de azúcar a partir de betabel. Se cosechan las raíces de achicoria y se trasladan a la fábrica, donde se pesan, lavan y cortan. Después, se extrae la inulina cruda con agua caliente y se realiza una primera purificación del jugo por carbonatación. Posteriormente, se refina utilizando resinas de intercambio iónico para desmineralización y carbón activado para eliminar el color. Finalmente, se hace pasar el jugo por un filtro de 0.2µm para esterilizarlo; se evapora y se seca por aspersion (Figura 1.3) (Franck, 2006).

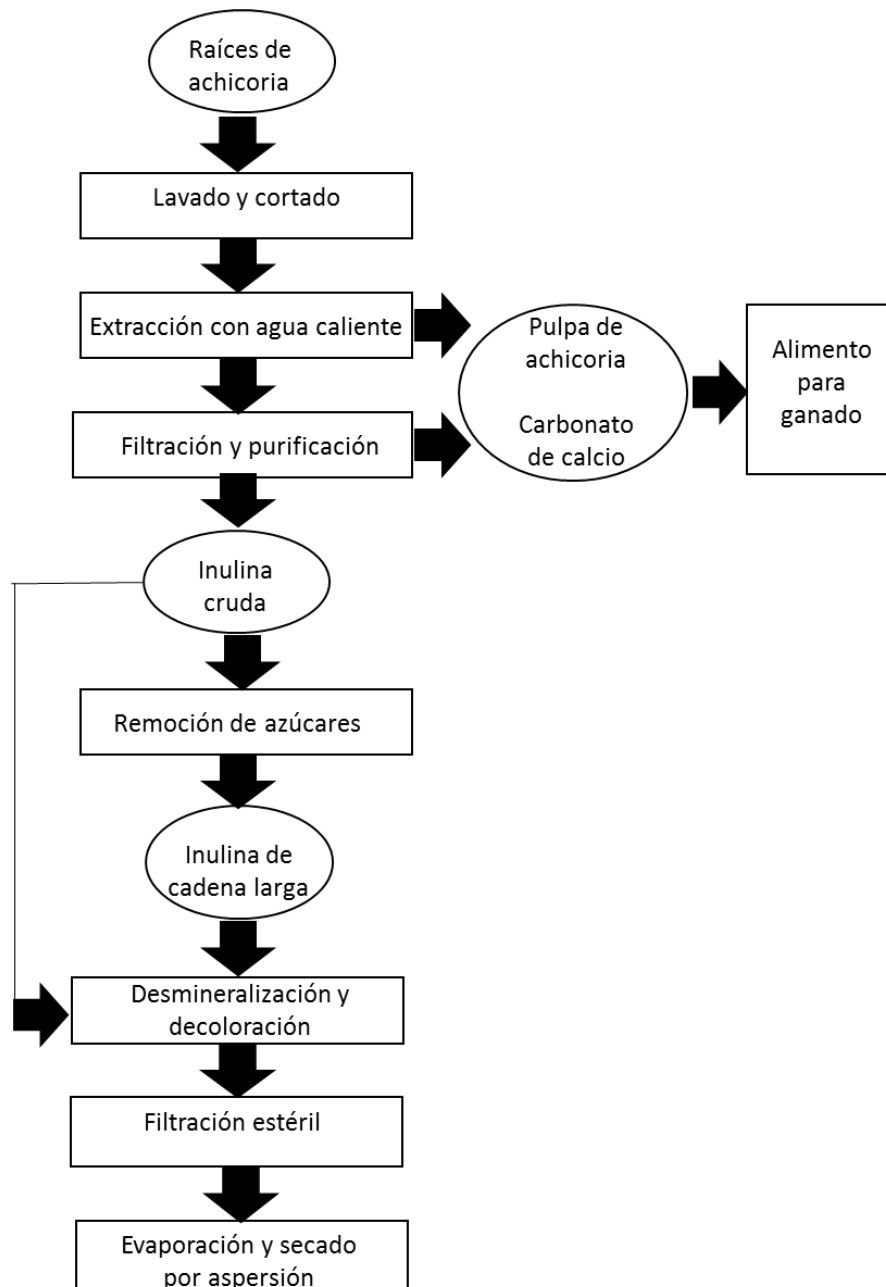


Figura 1.3. Proceso para la obtención de inulina (Franck, 2006).

1.3.3.4. Beneficios a la salud

Los seres humanos no poseen enzimas digestivas que puedan hidrolizar los enlaces β -(2 \rightarrow 1) que tiene la inulina, por lo que ésta pasa por la boca, el estómago y el intestino delgado, sin ser absorbido; hasta entrar al colon, donde es metabolizado por completo por las bacterias que ahí residen. En ese punto, la

inulina se convierte principalmente en ácidos grasos de cadena corta, biomasa bacteriana y gases. La inulina no tiene efectos en los niveles de glucosa en sangre, ni en los niveles de insulina (Franck, 2006).

Como se trata de una fibra dietética soluble, la inulina ayuda a la reducción del pH intestinal, alivio de la constipación e incremento de frecuencia y peso de la materia fecal. También tiene efecto prebiótico, al promover la actividad metabólica de bacterias benéficas, principalmente bifidobacterias y represión del crecimiento de bacterias patógenas (Tabla 1.2). Además, se ha visto que aumenta la absorción intestinal de calcio, hierro y magnesio en ratas y de calcio en humanos (Tabla 1.3). Otros estudios indican que puede prevenir la formación de lesiones y tumores en el colon de ratas (Rowland *et al.*, 1998).

Diseño	Dosis	Resultados	Referencias
8 sujetos en dieta controlada consumieron FOS, sacarosa o inulina al día por 15 días	15 g/día	Incremento significativo en bifidobacterias Decremento en clostridias	(Gibson <i>et al.</i> , 1995)
35 adultos mayores constipados consumieron inulina o lactosa por 19 días	20 y 40 g/día	Incremento significativo en bifidobacterias Decremento en enterobacterias y enterococos	(Kleessen <i>et al.</i> , 1997)
8 sujetos con dieta baja en grasa consumieron inulina como sustituto de grasa por 64 días. Dosis isoenergética	Hasta 34 g/día	Incremento significativo en bifidobacterias	(Kruse <i>et al.</i> , 1999)
10 adultos sanos consumieron inulina por 9 días	9 g/día	Incremento significativo en bifidobacterias Decremento en <i>Eubacterium rectale</i>	(Harmsen, 2002)
39 voluntarios sanos consumieron inulina o placebo por 4 semanas	2.5 g/día	Incremento significativo en bifidobacterias, sin cambio en los otros grupos	(Bounnik <i>et al.</i> , 2007)
30 voluntarios sanos consumieron inulina o maltodextrina por 2 semanas	5 y 8 g/día	Incremento significativo en bifidobacterias y clostridias en ambas dosis	(Kolida <i>et al.</i> , 2007)

Tabla 1.2. Estudios de las propiedades prebióticas de la inulina y los FOS en humanos sanos (Rastall, 2010).

Población	Diseño	Resultados	Referencia
9 hombres adultos jóvenes	Consumo de inulina o azúcar de betabel a 40 g/día	Incremento significativo en la absorción de calcio	(Coudray <i>et al.</i> , 1997)
59 mujeres adolescentes sanas	Consumo de FOS e inulina, FOS o placebo (8 g/ día) por 3 semanas	Incremento significativo en la absorción al consumir FOS + inulina, pero no FOS solos	(Griffin <i>et al.</i> , 2002)
55 mujeres adolescentes sanas	Consumo de FOS e inulina o placebo (8 g/ día) por 3 semanas	Incremento significativo en la absorción de calcio	(Griffin <i>et al.</i> , 2003)
100 adolescentes	Consumo de inulina + FOS o maltodextrina (8 g/día) por 12 meses	Incremento en la absorción de calcio y el contenido de minerales en los huesos	(Abrams <i>et al.</i> , 2005)
13 jóvenes adultos	Consumo de inulina + FOS (8 g/día) 8 semanas	Incremento en la absorción de calcio	(Abrams <i>et al.</i> , 2007)
15 mujeres post menopáusicas	Consumo de inulina + FOS o maltodextrina (10 g/día) por 6 semanas	Incremento en la absorción de calcio	(Holloway <i>et al.</i> , 2007)

Tabla 1.3. Estudios sobre el efecto de los prebióticos en la absorción de calcio en humanos (Rastall, 2010).

1.3.4. Fructooligosacáridos

Los fructooligosacáridos (FOS) son fructanos con un grado de polimerización menor a 10 y, junto con la inulina, son de los ingredientes más importantes utilizados en la formulación de alimentos funcionales, particularmente aquellos con propiedades prebióticas. Los FOS se producen por síntesis enzimática de sacarosa, utilizando fructosiltransferasas provenientes de hongos, o por hidrólisis enzimática de inulina, utilizando endo-inulinasas (Ávila-Fernández, 2011).

El agave es una planta de importancia industrial en México, debido a las numerosas bebidas fermentadas y destiladas que se obtienen de las distintas especies de ésta y, recientemente, también por los jarabes de fructosa de agave y los productos derivados funcionales (Cedeño, 1995). Las plantas de agave acumulan entre 13 y 17% de fructanos, cantidad similar a la inulina que está contenida en las plantas de achicoria. Mientras que la inulina es un fructano lineal

con enlaces $\beta(2\rightarrow1)$, los fructanos presentes en el agave, particularmente en *Agave tequilana*, tienen un grado de polimerización de 3 a 29 y un importante número de enlaces $\beta(2\rightarrow6)$, con ramificaciones. En consecuencia, se clasifican como fructanos mixtos (López *et al.*, 2003).

Además del efecto prebiótico, la oligofruktosa es altamente soluble y posee ventajas tecnológicas relacionadas al azúcar y a los jarabes de glucosa, como el incremento de la viscosidad, que lleva a una mejora en el cuerpo del producto y palatabilidad. Por ello, a pesar de su dulzor moderado, se utiliza como reemplazo de azúcar (Franck, 2006). Otras de sus propiedades tecnológicas son una temperatura baja de congelación, oscurecimiento limitado durante el calentamiento y alta capacidad de retención de humedad (Crittenden & Playne, 1996).

Capítulo 2. El uso de la inulina como prebiótico en yogurt

2.1. Yogurt

El yogurt es un producto lácteo que ha constituido un componente vital de la dieta humana en muchas regiones del mundo. Las leches fermentadas se consumen desde la antigüedad y se cree que se originaron en el medio oriente, con el fin de poder preservar la leche fluida, la cual se deterioraba rápidamente en las condiciones ambientales de esa región (Chandan & Shahani, 1993). El yogurt se extendió en los países occidentales desde principios del siglo XX, tras los trabajos de Metchnikov, quien concluyó que el consumo de leches fermentadas modifica el pH del medio intestinal y dificulta la acción de las bacterias dañinas (Mahaut *et al.*, 2014).

2.1.1. Definición y clasificación

El yogurt es un producto fermentado semisólido, elaborado a partir de leche estandarizada y la actividad simbiótica de una mezcla de cultivos de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*. Se utiliza leche de distintos mamíferos, aunque la mayor parte de la producción industrial de yogurt se elabora a partir de leche de vaca. Es común elevar la fracción de sólidos no grasos de la leche a 12%, agregando leche en polvo descremada; el incremento en el contenido de proteínas mejora la consistencia de la mezcla tras la fermentación (Chandan & Shahani, 1993).

El yogurt contiene no menos de 3.25% de grasa butírica y no menos de 8.25% de sólidos no grasos de leche, así como una acidez no menor a 0.9%, expresada como ácido láctico. El yogurt bajo en grasa debe contener entre 0.5% y 2% de grasa butírica y el yogurt descremado debe tener menos de 0.5% (Chandan & Shahani, 1993). En México la acidez mínima permitida es de 0.5% se permite hasta un 15.0% de contenido de grasa butírica (Tabla 2.1).

Existen dos tipos de yogurts: El yogurt firme o consistente, cuya fermentación tiene lugar en el propio envase; y el yogurt batido, cuya fermentación se realiza en un tanque, previo al batido y envasado del producto (Mahaut *et al.*, 2014).

El yogurt es uno de los productos lácteos más populares, debido al valor terapéutico que se le da y los beneficios a la salud que supone su consumo (Fasura *et al.*, 2015). La leche fermentada ha sido considerada tradicionalmente como saludable, fácil de consumir y con atractivas cualidades sensoriales.

2.1.2. Normatividad

La NOM-181-SCFI-2010 es la Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas y la información comercial que debe cumplir el producto denominado yogurt, así como los métodos de prueba para comprobar dichas especificaciones. Esta norma define al yogurt como 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. A parte de los microorganismos característicos, pueden adicionarse cultivos de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Debe contener un mínimo de 2.5% de proteína y 8.25% de sólidos no grasos, máximo 15% de grasa butírica y un mínimo de 0.5% de acidez titulable, expresada como ácido láctico (Tabla 2.1). Debe contener como mínimo 10^7 UFC/g del cultivo de *S. thermophilus* y *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* y de 10^6 UFC/g como mínimo de cultivos adicionales, en caso de estar presentes. El yogurt saborizado o con fruta puede contener hasta un 50% (m/m) de ingredientes no lácteos, añadidos antes o después de la fermentación.

Parámetro	Contenido
Proteína láctea (% m/m)	Mínimo 2.9
Grasa butírica (% m/m)	Máximo 15.0%
Acidez titulable expresada como porcentaje de ácido láctico (% m/m)	Mínimo 0.5%
Sólidos lácteos no grasos	Mínimo 8.25%

Tabla 2.1. Especificaciones fisicoquímicas del yogurt (NOM-181-SCFI-2010).

2.1.3. Proceso de elaboración

La fabricación de yogurt puede realizarse a partir de leche entera, o de leche parcial o totalmente descremada. El primer paso consiste en el enriquecimiento de los sólidos totales hasta el 14-16% si se parte de leche entera o semidescremada, y al 10-12% si se parte de leche descremada (Figura 2.1). El enriquecimiento se puede realizar por concentración de la leche, aunque es más frecuente realizarlo por adición de leche en polvo descremada o de proteínas del suero. El contenido de sólidos es muy importante porque condiciona la viscosidad y consistencia del producto, además de que las proteínas y la materia grasa contribuyen a enmascarar la acidez del yogurt. La relación de caseínas/ proteínas del suero debe ser 80:20 (Mahaut *et al.*, 2014).

Una vez que se tiene el contenido de sólidos deseado, se realiza un tratamiento térmico para eliminar a la microbiota competitiva, inactivar algunas enzimas y generar factores de crecimiento. Para esto, la leche debe calentarse a 90-95°C durante 3 a 5 minutos. Después, la leche se homogeniza a una presión de 25 MPa y una temperatura de 55-60°C, con el fin de que se impida la separación de la materia grasa durante la coagulación, así como mejorar la retención de agua y firmeza del producto final (Mahaut *et al.*, 2014).

El siguiente paso es la inoculación de los cultivos de *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, en una concentración elevada (1-7%) para garantizar la acidificación del producto, y una relación *S. thermophilus*/*L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* que va de 1.2 a 2:1 para yogurt natural y hasta 10:1

para yogurt de frutas. La incubación se lleva a cabo a temperaturas entre 42 y 45°C durante un tiempo de 2 horas y media a 3 horas y media. En el caso del yogurt firme, la acidificación tiene lugar en el envase, mientras que para el yogurt batido, ocurre en tanques de fermentación. Una vez alcanzada la acidez deseada, se refrigera rápidamente el producto, para detener la fermentación. En este punto se agregan frutas y sabores y se realiza en envasado. El producto debe almacenarse a temperatura de refrigeración para asegurar una vida de anaquel deseable. La vida de anaquel del yogurt es de 21 días, almacenado de 2 a 5°C (Mahaut *et al.*, 2014).

Durante la fermentación se presentan algunos cambios en la composición del yogurt. La mezcla para elaborar yogurt tiene un contenido de lactosa de alrededor de 6%. Durante la fermentación la lactosa es la principal fuente de carbono presente, por lo que ésta se reduce en aproximadamente 30%. Las proteínas se hidrolizan y liberan grupos amino; la proteólisis continúa durante la vida de anaquel del producto, lo cual indica que algunas enzimas proteolíticas se mantienen activas. Una pequeña cantidad de ácidos grasos, principalmente esteárico y oleico, se liberan por actividad enzimática. Se generan algunos compuestos claves para el sabor del yogurt, como ácido láctico, acetaldehído, acetona, diacetilo y otros compuestos carbonílicos. La formación de diferentes oligosacáridos contribuye a aumentar la viscosidad, mejorar la textura y disminuir la sinéresis del yogurt (Chandan & Shahani, 1993).

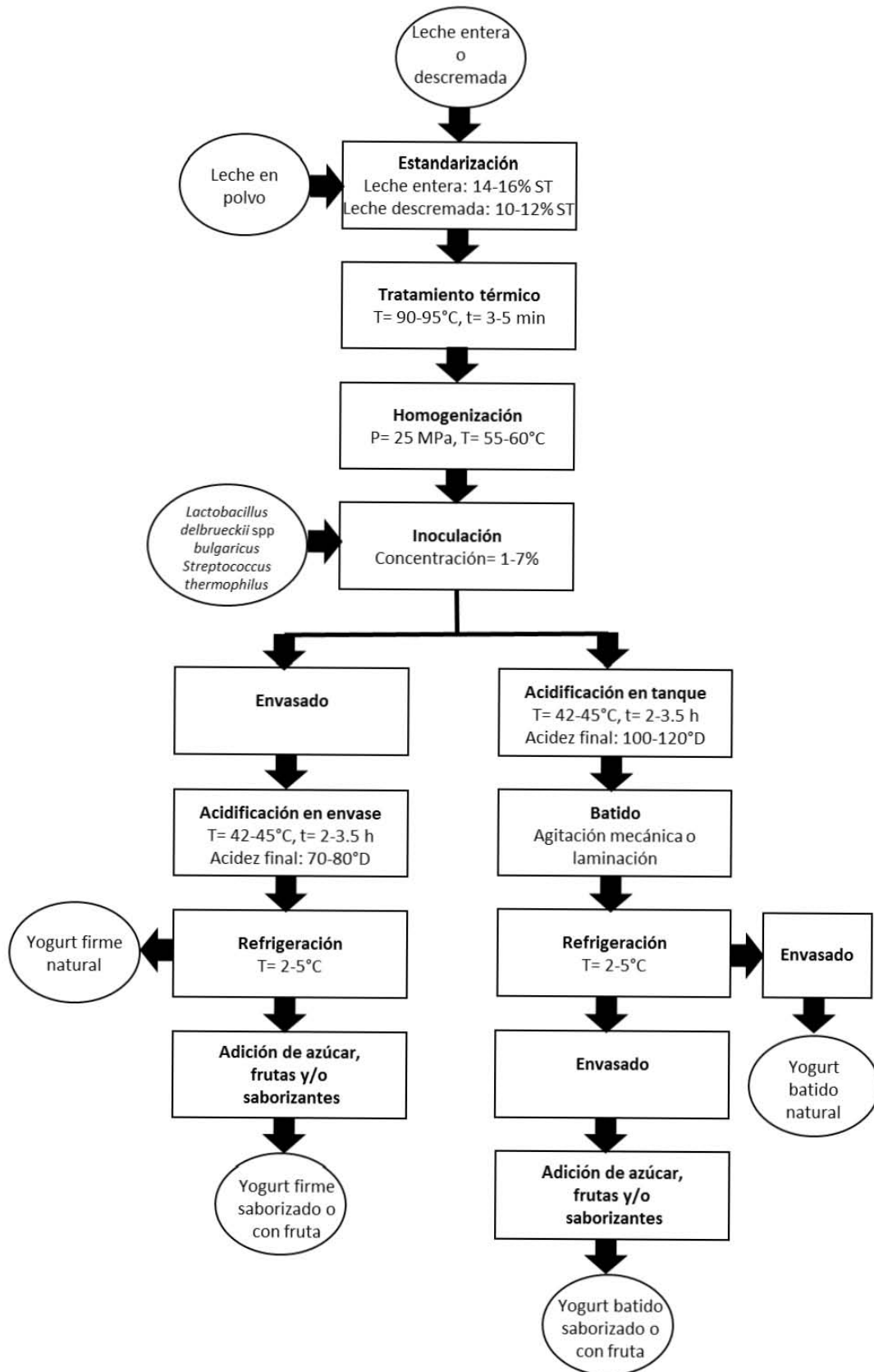


Figura 2.1. Proceso de elaboración de yogurt (Mahaut et al., 2014).

2.2. Yogurt adicionado con inulina

El yogurt es un alimento nutritivo, debido a su alto contenido de proteína y calcio. Se ha producido a partir de leche descremada para evitar la ingesta excesiva de grasa en la dieta y los problemas a la salud que esto conlleva, como enfermedades cardiovasculares, obesidad, cáncer y diabetes. Sin embargo, utilizar como materia prima leche sin grasa o con un contenido bajo de ésta, puede resultar en un producto con problemas fisicoquímicos y sensoriales, como la disminución de la estabilidad y viscosidad del producto (Srisuvor *et al.*, 2013).

En los últimos años se ha estudiado la elaboración del yogurt con prebióticos, como la inulina. Se ha observado que ésta estimula el crecimiento y conserva la viabilidad de los organismos probióticos en el yogurt, además de causar un incremento en la viscosidad del producto y sustituir la grasa (Donkor *et al.*, 2007).

La propiedad de la inulina de actuar como sustituto de grasa se basa en su capacidad para formar micro cristales, los cuales interactúan entre sí, formando pequeños agregados, que se aglomeran en una red tipo gel. El grado de polimerización que tiene la oligofructosa o la inulina de cadena corta, es insuficiente para lograr la formación de micro cristales y la estructura de gel. La inulina debe tener un DP mayor a 10 para participar en este proceso, mientras que las porciones más pequeñas se disuelven (Hebbette *et al.*, 1998; Meyer *et al.*, 2011). El índice de cristalización, el tamaño de cristal y la firmeza del gel depende de la concentración, grado de polimerización, el tratamiento térmico y de cizalla y la presencia de cristales semilla (Meyer & Blaauwhoed, 2009). Entre más larga sea la cadena, ésta tiene una menor solubilidad y cristaliza más rápidamente (Zimeri & Kokini, 2003).

2.2.1. Funcionalidad de la inulina en el yogurt

Prebióticos, como la inulina y la povidexrosa, pueden ser utilizados como sustitutos de grasa en productos lácteos bajos en este componente, pues cuentan con ventajas funcionales. Algunos investigadores han tratado de mejorar las propiedades funcionales y de textura del yogurt bajo en grasa, utilizando estos reemplazos. En 2004, Staffolo *et al.*, encontraron que el yogurt con inulina presentaba color y actividad acuosa estables y que no existía sinéresis durante el almacenamiento. Helland, Wicklund & Narvhus (2004), establecieron que cuando se utiliza inulina como sustituto de grasa, ésta provee una textura y sensación en la boca similar a la de la grasa (Srisuvor *et al.*, 2013).

La adición de inulina en yogurt tiene como efecto la disminución del valor del límite de fluencia y de la firmeza, debido a la interferencia de la inulina en la formación de la matriz proteínica, al dispersarse las moléculas de inulina entre las micelas de caseína. Este efecto puede ser similar a la interferencia que ejercen los glóbulos grasos en la formación de la matriz proteica (Paseephol *et al.*, 2008).

2.2.2. Efecto simbiótico

Las bacterias acidolácticas son probióticos, que al añadirse en grandes cantidades a los alimentos, sobreviven el paso por el tracto digestivo hasta el intestino, donde se adhieren a las células intestinales, fomentando un mejor balance intestinal. Los probióticos utilizados en productos lácteos pertenecen a los géneros de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* y *Saccharomyces* (Kailasapathy & Rybka, 2007).

Los prebióticos, como la inulina, ejercen un efecto protector hacia algunos microorganismos. En 2007, Donkor *et al.*, probaron que la inulina mejora la supervivencia y actividad de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* en

yogurt durante su almacenamiento. El efecto podría ser similar para otras especies del género *Lactobacillus*, como *L. rhamnosus* y *L. bulgaricus*.

En el año 2011, De Souza *et al.*, realizaron un estudio para evaluar el efecto prebiótico de la inulina en la presencia de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*, así como el efecto simbiótico. Encontraron que la adición de 4 g de inulina en 100 g, disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) el tiempo de generación de los cinco microorganismos utilizados como cultivo puro, con un mayor interés en *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus acidophilus*, pues su tiempo de generación se redujo en un 30%. Esto indica que la inulina ejerció un efecto prebiótico. En cultivos mezclados con *Streptococcus thermophilus*, se observó una reducción mayor en los tiempos de generación de los otros cuatro microorganismos, lo que confirma la ocurrencia de un efecto sinérgico entre *Streptococcus thermophilus* y las otras cepas. Este resultado se repitió en cultivos que contenían los 5 microorganismos, los cuales tuvieron los menores tiempos de generación. La presencia de inulina indujo la reducción de este parámetro aún más que en los cultivos puros.

Las bacterias probióticas en el yogurt deben encontrarse en cantidades de al menos 10^6 UFC/g para ejercer los efectos terapéuticos (Dave & Shah, 1997; Shin *et al.*, 2000; Shakerian *et al.*, 2014). La presencia de organismos vivos en los productos lácteos, puede limitar la vida de anaquel de estos. Las bacterias probióticas añadidas al yogurt, tienen poca supervivencia durante el almacenamiento del producto, pues se ha reportado que el tiempo de vida máximo, sin la adición de agentes prebióticos, es de 7 días (Akalin *et al.*, 2004).

En el año 2014, Shakerian *et al.*, realizaron un estudio para evaluar el efecto de la adición de inulina, el contenido de grasa y la concentración de cultivo iniciador, en el crecimiento de bacterias probióticas en yogurt. Encontraron que al añadir 1.0% de inulina se afectaba significativamente el crecimiento de *Bifidobacterium*

animalis y *Lactobacillus acidophilus* y que la cuenta de células fue disminuyendo conforme disminuyó el pH de 4.9 a 4.5. Los resultados mostraron que *B. animalis* creció bien en el yogurt suplementado con inulina, alcanzando una concentración por encima de 10^6 UFC/mL, a un pH final de 4.5. Como esperaban, las muestras que tuvieron una mayor concentración de cultivo iniciador, tenían una población mayor de bacterias en el producto. Así mismo, concluyeron que los yogurts con mayor contenido de grasa tenían un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento de cultivos probióticos.

2.2.3. Cambios en la textura del yogurt

En el año 2011, De Souza *et al.*, realizaron un estudio con el fin de observar la capacidad de la inulina para mejorar la firmeza, tras almacenamiento a corto plazo, de leche descremada fermentada por *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Bacillus lactis*, tanto en cultivos puros como en cultivos binarios con *Streptococcus thermophilus*. La firmeza de los productos elaborados con cultivos binarios con *S. thermophilus* fue mayor que la de todos los cultivos puros. Este resultado era esperado, pues se sabe que *S. thermophilus* es el microorganismo responsable de la firmeza del yogurt y es por este motivo se utiliza más que otras bacterias lácticas a nivel industrial. Al tener cultivos binarios, se da un efecto sinérgico, ya que el CO₂ y ácido fórmico producidos por *S. thermophilus*, estimulan el crecimiento de los microorganismos del género *Lactobacillus*, los cuales liberan péptidos gracias a su actividad proteolítica y estos péptidos estimulan el crecimiento de *S. thermophilus*. De acuerdo a Donker *et al.* (2007), un mayor crecimiento microbiano es una de las causas del incremento de la firmeza en el yogurt. El cultivo binario que presentó mayor firmeza y fue significativamente diferente a los demás ($p \leq 0.05$), fue el cultivo de *S. thermophilus* y *L. rhamnosus* (De Souza *et al.*, 2011a).

De Souza *et al.*, (2011) encontraron que la firmeza también se incrementó significativamente ($p \leq 0.05$) con la adición de 40 mg de inulina por cada 100 g de

leche descremada, aumentando aproximadamente en un 14%. La adición de inulina incrementó el contenido total de sólidos, lo que tendría como consecuencia un incremento en la viscosidad y por lo tanto un aumento de firmeza. El incremento en la viscosidad también se atribuye a la interacción entre los oligosacáridos y los polisacáridos y las proteínas de la leche. Una última hipótesis menciona que el efecto prebiótico de la inulina estimula el metabolismo de las bacterias ácido-lácticas, con lo que se incrementa el nivel de fructosa liberada por hidrólisis parcial, al ser metabolizada como fuente de energía y carbono adicional; la firmeza se incrementaría debido a la liberación de exopolisacáridos de glucosa, galactosa u otros monosacáridos, por la acción combinada de varios tipos de glicosiltransferasas. La inulina pudo proveer energía adicional para potenciar la biosíntesis de exopolisacáridos, los cuales aumentan la firmeza y la viscosidad.

2.2.4. Otros cambios fisicoquímicos

Srisuvor *et al.*, en el año 2013, realizaron un estudio para comparar los efectos del uso de inulina y povidexrosa en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del yogurt bajo en grasa. Encontraron que ni la variación en la cantidad, ni el tipo de prebiótico añadido al yogurt, afectaron significativamente los parámetros de acidez titulable, pH y sinéresis. La estabilidad del gel es una de las propiedades físicas más importantes para el yogurt bajo en grasa y parámetros como el contenido total de sólidos y de proteína, el proceso térmico, la homogeneización, la acidez del yogurt y la actividad del cultivo iniciador, afectan esta propiedad. El contenido total de sólidos aumentó conforme se aumentó la cantidad de sustituto de grasa. La cantidad de prebiótico utilizada no afectó la sinéresis, pero las muestras con inulina presentaron menor sinéresis que las muestras con povidexrosa. A mayor capacidad de retención de agua, mejor estabilidad del gel. En este estudio se encontró que los productos con povidexrosa tenían una mejor capacidad de retención de agua que los productos con inulina y que no existía cambio en este parámetro al variar la concentración de prebiótico.

En el año 2007, Donkor *et al.*, encontraron que un yogurt añadido con inulina comercial, en una proporción de 0.5 a 1.5 g/100 g, tenía una viscosidad aparente significativamente mayor que el control. En el estudio de Srisuvor *et al.* (2013), la viscosidad aparente de las muestras añadidas con prebióticos, tuvieron una relación inversamente proporcional a su concentración en el producto. La firmeza y la consistencia se vieron afectadas significativamente ($p \leq 0.05$) y ambos prebióticos aumentaron el nivel de estos parámetros hasta cierto punto. En 2005, Guven reportó que la mayor firmeza se obtenía con la muestra de 1 g de inulina/ 100 mL de leche y que la mayor consistencia se obtenía en la muestra con 2 g de inulina/ 100 mL de leche. En los resultados de Srisuvor *et al.* (2013), la adición de prebióticos aumentó la consistencia en comparación del control, una concentración de 2 g/100 mL, tanto para inulina, como para polidextrosa. Ambos prebióticos son fibras solubles e incluso la inulina se conoce por ser un agente gelificante. Una concentración excesiva de estos componentes podría resultar en un exceso de atrapamiento de agua, dando paso a un gel con menor consistencia.

En un estudio realizado en el año 2014 por Crispín-Isidro *et al.*, se evaluó la adición de diferentes cantidades (20, 40 y 60 g/L) de fructanos de agave e inulina a yogurt batido elaborado a partir de leche reducida en grasa. Encontraron que la sinéresis fue menor en las muestras adicionadas con fructanos o inulina, con respecto al control (yogurt a partir de leche entera), con excepción de la muestra que contenía 20 g/L de inulina, la cual fue similar al control. Estos resultados se pueden explicar por la habilidad que tienen las moléculas de fructanos e inulina para atrapar el agua libre y para actuar con los constituyentes de la leche, dando estabilidad a la red de proteínas. Además, una mayor concentración de fructanos e inulina origina una matriz proteica menos propensa a la expulsión del suero, pues tiene una mayor cantidad de sólidos atrapados en ella.

Crispín-Isidro *et al.*, (2014) también observaron la microestructura de los yogurts reducidos en grasa y notaron que el arreglo de la red de proteínas era distinto en cada concentración de inulina. La estructura del yogurt control consistió en una red

tridimensional compuesta por cadenas y agregados de micelas de caseína fusionadas, con forma aún discernible y en medio un espacio ocupado por suero y por lactobacilos. Los fructanos del agave cubren las micelas de caseína y actúan como cemento, dando como resultado una red menos densa y con menos agregados de micelas fundidas, al no haber tantos glóbulos de grasa que ligen a las proteínas (Figura 2.2). En el caso de las muestras con inulina, ésta forma estructuras alargadas que se mezclan con la red de proteínas, y con el incremento de concentración de inulina, se hacen más visibles (Figura 2.3).

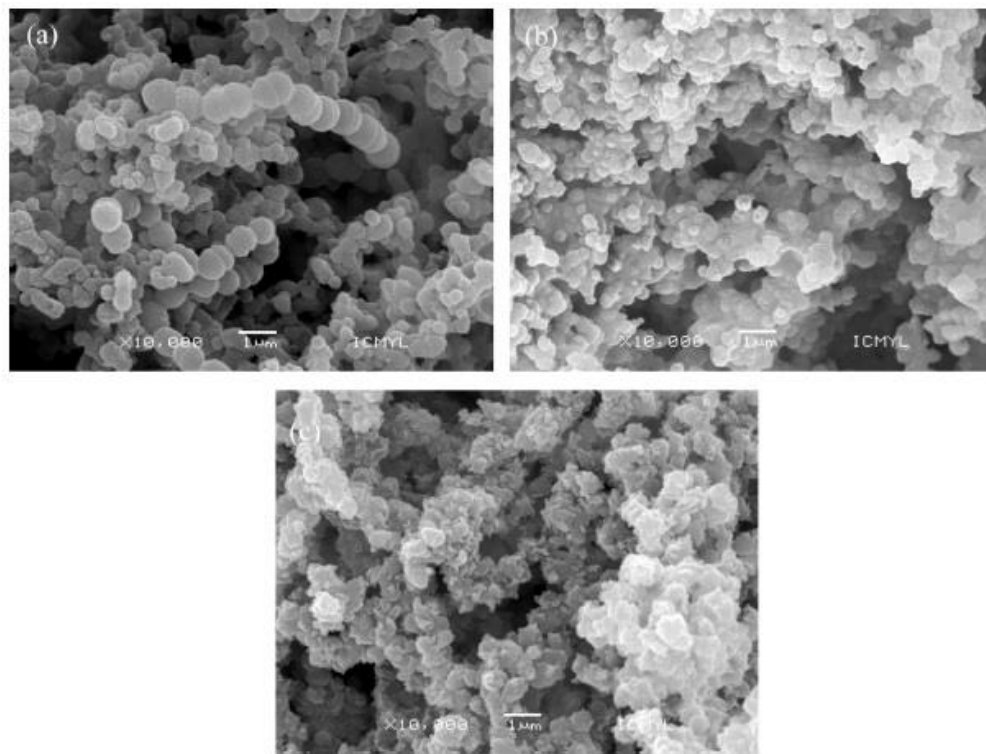


Figura 2.2. SEM (Scanning Electron Microscope). Micrografía de yogurts reducidos en grasa adicionados con fructanos en diferente concentración: a) 20 g/L, b) 40 g/L y c) 60 g/L (Crispín *et al.*, 2014).

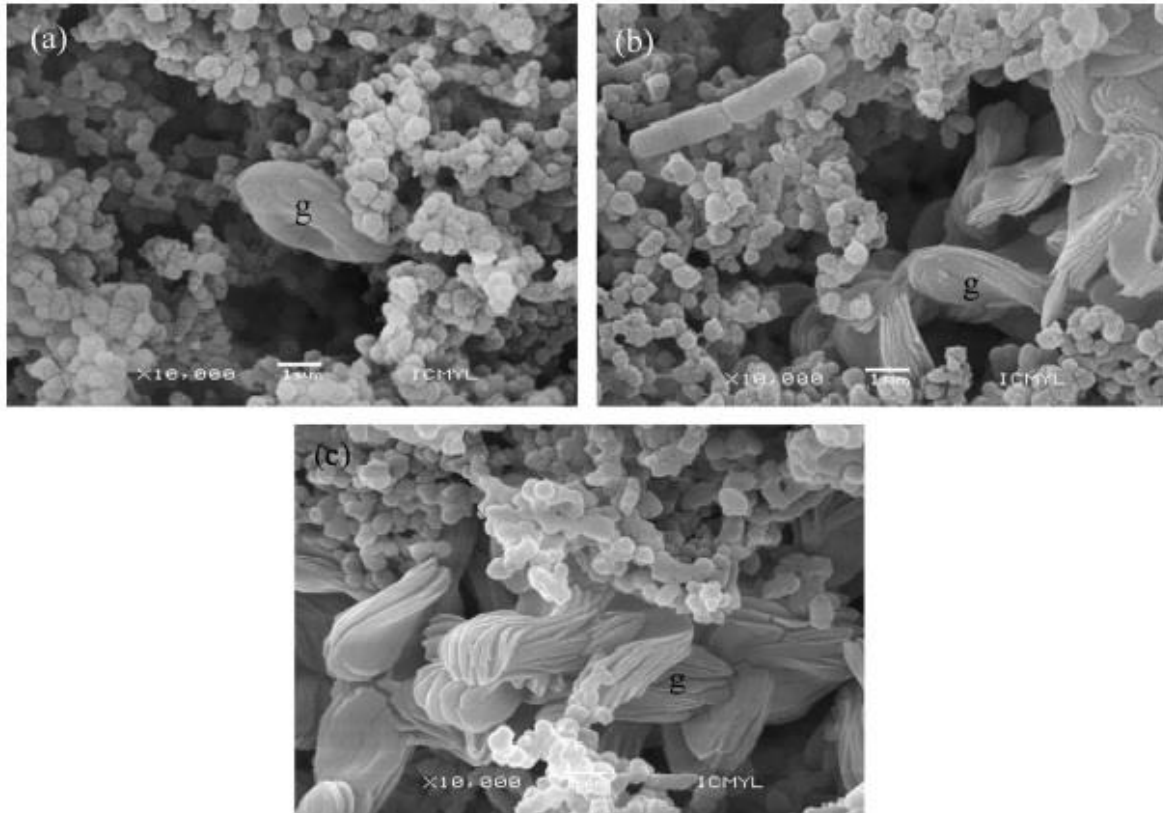


Figura 2.3. SEM. Micrografía de yogurts reducidos en grasa adicionados con inulina en diferente concentración: a) 20 g/L, b) 40 g/L y c) 60 g/L. La letra g representa la inulina (Crispín *et al.*, 2014).

2.2.5. Cambios sensoriales

Un yogurt de buena calidad debe mantener un gel firme e integrado, sin señales de desintegración, sinéresis o formación de grumos, además de poseer un aroma y sabor agradables. La sinéresis se considera un defecto, que afecta a la apariencia y a la sensación en la boca, pudiendo afectar la preferencia o aceptación del producto (Srisuvor *et al.*, 2013).

Srisuvor *et al.*, en su estudio realizado en el año 2013, encontraron que tanto la inulina como la povidexrosa mejoraba significativamente ($p \leq 0.05$) en cuanto a apariencia, color, textura y preferencia general, con respecto al control. En cambio, no se encontró diferencia en cuanto a sabor y aroma. La cantidad de cada aditivo

que resultó en las mejores propiedades sensoriales, fue de 1g/100 mL para inulina y 1-2g/100 mL para polidextrosa.

Crispín-Isidro *et al.*, en el año 2014, evaluaron yogurts reducidos en grasa adicionados con inulina o fructanos de agave (20, 40 y 60) g/L y un yogurt control elaborado a partir de leche entera. Los yogurts adicionados con fructanos o inulina tuvieron puntajes similares o superiores al control en cuanto a sabor, viscosidad, cremosidad y aceptación general. La adición de inulina o fructanos compensa o mejora los atributos sensoriales de yogurts reducidos en grasa.

Fasura *et al.*, en el año 2015, elaboraron yogurts a partir de leche de oveja, con distinta cantidad de inulina (0, 2 y 6% m/m) como prebiótico, para observar la influencia de la inulina en la consistencia del yogurt y evaluar la respuesta de los consumidores hacia este producto. No encontraron diferencias significativas en el nivel de agrado de los productos. Cuando la inulina es añadida en bajas concentraciones a alimentos, las propiedades reológicas y sensoriales del producto no se ven afectadas en gran medida, debido a su sabor neutral o ligeramente dulce y a un limitado efecto en la viscosidad. En la evaluación sensorial, no se encontró diferencia significativa entre la viscosidad percibida, pero la muestra con 6% de inulina presentó una mayor cremosidad, suavidad y mejor sensación en la boca.

2.2.6. Beneficios a la salud

La inulina comúnmente se añade a los alimentos en concentraciones de 0.6 a 2.1 g/100 g (Saulnier, 2009). Se trata de fibra soluble prebiótica, que ha mostrado incrementar los niveles de *Bifidobacteria* spp. en las heces y ejercer un efecto laxativo leve en personas con constipación. Se ha encontrado que 16 g/ día de inulina y oligosacáridos, disminuyen subjetivamente los niveles de hambre y la concentración en plasma de los péptidos intestinales que regulan la ingesta de comida, lo que sugiere un efecto benéfico en adultos. Los alimentos funcionales

que modulan la ingesta de energía e incrementan el consumo de fibra pueden ser importantes en la estrategia para combatir el sobre peso, la obesidad y los problemas asociados a éstos (Cani *et al.*, 2009).

El consumo de productos lácteos, incluyendo el yogurt, es considerable en América del norte y Europa y los líderes en el mercado de probióticos se encuentran entre estos productos (Leovaridis, 2010). Esto se debe a que los consumidores están familiarizados con el hecho de que los productos lácteos fermentados contienen bacterias vivas (Heller, 2001) y al hecho de que se pueden añadir cepas vivas de probióticos a estos productos con relativa facilidad (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001).

El yogurt se considera una matriz alimentaria adecuada para lograr un efecto simbiótico (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001). La adición de prebióticos a productos lácteos ha demostrado mejorar la supervivencia de bacterias probióticas durante su vida de anaquel (Desai *et al.*, 2004) y se tiene evidencia de que los yogurts con fibra dietética pueden suprimir el apetito a corto plazo y ser efectivos en el control de la ingesta de alimentos (Lluch *et al.*, 2010).

En el año 2013, Tulk *et al.*, realizaron un estudio para investigar si el consumo diario de un yogurt simbiótico mejoraba la función gastrointestinal. Pidieron a los participantes mantener su estilo de vida normal, así como sus hábitos alimenticios, con la excepción de que debían evitar el consumo de yogurt y productos adicionados con prebióticos o probióticos, salvo los del tratamiento. El tratamiento consistió en un yogurt control y un yogurt con simbióticos, *Bifidobacterium lactis* ($\geq 10^7$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* ($\geq 10^7$ UFC/g), *Lactobacillus casei* ($\geq 10^7$ UFC/g) y 2 g de inulina por cada 100g de yogurt. Se les indicó a los participantes que consumieran 2 porciones de 100 g por día durante cada periodo de tratamiento. Ellos encontraron que consumir un yogurt simbiótico no cambiaba el tiempo de tránsito gastrointestinal. Probablemente sus resultados se debieron a que los participantes eran personas sanas, jóvenes y con un buen tiempo de

tránsito intestinal; pues existe evidencia previa de la mejora del tiempo de tránsito intestinal con el consumo de productos lácteos enriquecidos con probióticos, ocurre siempre que el tiempo de tránsito intestinal inicial sea lento (Meance *et al.*, 2001, Marteau *et al.*, 2002, Yang *et al.*, 2008) o se trate de personas con constipación funcional (De Paula *et al.*, 2008).

Tulk *et al.*, (2013) encontraron que incluir un yogurt con probióticos e inulina en la dieta diaria era tolerado adecuadamente por adultos sanos y que no había síntomas gastrointestinales adversos más allá de los mismos observados por el consumo del yogurt control. Así mismo, la dosis de 4 g al día de inulina fue tolerada; por lo que se concluye que el consumo de productos lácteos fermentados con una moderada cantidad de inulina, no induce síntomas gastrointestinales indeseables en adultos sanos. Además, observaron reducciones en la ingesta de energía diaria de 120 Kcal, lo que pudiera impactar significativamente en el balance de energía para prevenir un incremento de peso. Este resultado indica que regular el consumo de simbióticos puede traducirse en cambios benéficos y medibles en la dieta de adultos sanos.

Capítulo 3. El uso de la inulina como modificador de textura de queso

3.1. Queso

Los quesos se elaboran desde hace más de 10,000 años y se dispone de pruebas históricas sobre el desarrollo de este producto en los países mediterráneos, que datan de 8,000 años A.C (Banks, 1998).

3.1.1. Definición y clasificación

La FAO define al queso como el producto fresco o madurado obtenido por drenaje de líquido, tras la coagulación de la leche, crema, leche descremada, o una combinación de dichos ingredientes. Esta definición excluye al requesón y a quesos elaborados a partir de nuevos procesos (Scott, 2002).

Las modificaciones en los procesos de elaboración y de maduración que los fabricantes han ido realizando durante cientos de años en distintos lugares del mundo, han generado una gama muy amplia de quesos diferentes. Las distintas variedades pueden clasificarse según su aspecto, características de maduración y composición química (Banks, 1998). Sin embargo, la gran cantidad de variedades de quesos, complica extraordinariamente su clasificación. Una variedad bien conocida posee características propias y distintivas, como el tamaño, forma, peso, color, aspecto externo y datos sobre su composición, como el contenido de grasa, de sal o de agua; aunque puede ser difícil determinar el sabor y el aroma (Scott, 2002).

Una clasificación muy general del queso, aunque de aplicación limitada, es aquélla que se basa en la composición, considerando el contenido de humedad en sólidos no grasos y el contenido de grasa en materia seca. En la Tabla 3.1 se encuentran los tipos de queso de acuerdo a esta clasificación. La desventaja de esta clasificación, es que no define si el queso está madurado o no, ni define el

tamaño, forma y aspecto interno; así como tampoco diferencia entre variedades maduras por bacterias superficiales, mohos superficiales o crecimiento interno de mohos (Scott, 2002). En la Tabla 3.2 se encuentra la clasificación de queso de acuerdo a las normas mexicanas.

Tipo de queso	Humedad en sólidos no grasos (%)	Grasa de la materia seca (%)
Extraduro	<51	<60
Duro	49-55	40-60
Semiduro	53-63	25-50
Semiblando	61-68	10-50
Blando	>61	10-50

Tabla 3.1. Clasificación del queso basada en la composición (Scott, 2002)

Tipo de queso	Características
Fresco	Alto contenido de humedad; sin corteza o corteza muy fina.
Madurado	Pasta dura, semidura o blanda; pueden o no tener corteza; están sometidos a un proceso de maduración mediante microorganismos, bajo condiciones controladas de tiempo, temperatura y humedad; pueden o no requerir refrigeración.
Procesado	Elaborados con mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales; sometidos a proceso térmico de 70°C durante 30 segundos o someterse a cualquier otra combinación equivalente.
De suero	Obtenidos a partir del suero de leche entera, semidescremada, o descremada pasteurizada de vaca, cabra u oveja; coagulado por calentamiento en medio ácido.

Tabla 3.2. Clasificación de quesos según las normas mexicanas (NOM-243-SSA1-2010).

3.1.2. Normatividad

La NOM-243-SSA1-2010 es la Norma Oficial Mexicana que establece las disposiciones, especificaciones y métodos de prueba de la leche, producto lácteo, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Esta norma define al queso como el producto elaborado de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles, y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento,

drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de queso.

De acuerdo a su proceso, clasifica a los quesos en: fresco, madurado y procesado (Tabla 3.2). Los quesos frescos se caracterizan por su alto contenido de humedad, y por no tener corteza o tener una corteza muy fina, pudiendo o no adicionarles aditivos e ingredientes opcionales. Los quesos madurados se caracterizan por ser de pasta dura, semidura o blanda, y pueden o no tener corteza; son sometidos a un proceso de maduración mediante la adición de microorganismos, bajo condiciones controladas de tiempo, temperatura y humedad, para provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos característicos del producto del que se trate, lo que permite prolongar su vida de anaquel, los cuales pueden o no requerir refrigeración. Los quesos procesados se caracterizan por ser elaborados con mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales, sometidos a proceso térmico de 70°C durante 30 segundos o someterse a cualquier otra combinación equivalente o mayor de tiempo y temperatura, lo que permite prolongar su vida de anaquel.

La NOM 243 indica los parámetros microbiológicos de los distintos tipos de queso (Tabla 3.3), así como normas correspondientes al etiquetado, donde se debe indicar el contenido de grasa butírica y de proteína. También se especifican los métodos de prueba que se deberán llevar a cabo para la medición de los distintos parámetros.

Microorganismo	Límite máximo
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤100 UFC/g quesos madurados y procesados 1000 UFC/g quesos frescos y de suero
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25g o mL
<i>Escherichia coli</i>	100 UFC/g quesos frescos ≤10 NMP/g quesos madurados y procesados
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente en 25g o mL
<i>Vibrio cholerae</i>	Ausente en 25g quesos frescos
Enterotoxina estafilococcica	Negativa
Toxina botulínica	Negativa
Mohos y levaduras	500 UFC/g o mL quesos frescos, madurados y de suero 100 UFC/g o mL quesos procesados

Tabla 3.3. Límites máximos de contenido microbiano para queso, establecidos por la NOM-243-SSA1-2010

3.1.3. Proceso de elaboración

El queso se elabora a partir de leche. La composición del queso se ve afectada por la composición de la leche que se utiliza como materia prima, especialmente en cuanto al contenido de grasa, proteína, calcio y pH de ésta. Además, la leche debe estar libre de químicos que la contaminen, antibióticos y ácidos grasos libres, que pueden dar mal sabor al queso (Fox *et al.*, 2000).

Las distintas variedades de quesos tienen una proporción específica de grasa y proteína, por lo que el primer paso en la elaboración de queso es la estandarización de la composición de la leche, para lograr la proporción necesaria de grasa y proteína (Figura 3.1). La composición puede modificarse: removiendo grasa por el proceso natural de descremado, agregando leche descremada, crema o leche evaporada (Fox *et al.*, 2000).

El calcio juega un papel importante en la coagulación de la leche por el cuajo y la desestabilización de las micelas de caseína, así que es una práctica común agregar a la leche cloruro de calcio, en una concentración aproximada de 0.01%. También el pH es crucial y éste puede ajustarse con la adición de 1.5-2% de cultivo iniciador (Fox *et al.*, 2000).

Tradicionalmente, el queso se producía a partir de leche cruda, pero hoy se sabe que esta práctica representa un riesgo a la salud pública, además de que la presencia de microorganismos indeseables, puede ocasionar defectos en el sabor o la textura del producto final. Por ello, la leche debe pasteurizarse antes de continuar con el procedimiento de elaboración de queso (Fox et al., 2000).

Una vez que la leche está estandarizada y ha sido pasteurizada, el siguiente paso es la acidificación. Ésta normalmente se logra mediante la producción in situ de ácido láctico a través de la fermentación de lactosa por bacterias acidolácticas, inoculadas en el cultivo iniciador. La acidificación también puede realizarse directamente, utilizando ácido láctico. El pH final de la cuajada para quesos duros varía entre 5.0 y 5.3, mientras que para quesos blandos o coagulados por ácido, es de 4.6 (Fox et al., 2000).

El paso esencial en la elaboración de todas las variedades de quesos involucra la coagulación de la caseína de la leche, para formar un gel, que atrapa la grasa. La coagulación se puede lograr por distintos procedimientos: proteólisis limitada por proteinasas, como la quimosina; acidificación a pH 4.6; acidificación a un pH mayor a 4.6, en combinación con calentamiento a 90°C (Fox et al., 2000). Las condiciones para la coagulación de la leche, incluyendo temperatura, acidez y agente coagulante, deben estandarizarse para que la firmeza del coágulo durante el cortado sea igual. La temperatura a la cual se calienta la cuajada y la velocidad de calentamiento, afectan la velocidad de sinéresis y de crecimiento de los microorganismos del cultivo iniciador. La temperatura final también impacta en la supervivencia de las distintas bacterias presentes en el cultivo (Scott, 2002).

Tras la coagulación, se corta o rompe la cuajada para inducir la sinéresis. A esta etapa se le conoce como desuerado y es una de las más importantes del proceso, ya que, al separar la cuajada del suero, se produce la coalescencia de las partículas de cuajada, para formar el queso. Puede bastar con la compactación natural con o sin presión para formar el queso, o puede requerirse de un amasado

posterior, según el tipo de queso (Scott, 2002). La velocidad y extensión de la salida del suero dependen de la composición de la leche, especialmente los iones de calcio y la caseína; del pH del suero; de la temperatura de cocción; de la velocidad de mezclado; y del tiempo (Fox et al., 2000). En particular, el tamaño de las partículas de la cuajada, afecta la velocidad de pérdida del suero (Scott, 2002).

Posteriormente, se realiza el salado. De acuerdo a la variedad de queso, tendrá una tasa y momento específicos de aplicación de sal, así como la forma de llevarlo a cabo, sea salado en seco o por inmersión en salmuera. También deben controlarse el tamaño del grano de sal en el salado en seco, así como la temperatura que debe mantenerse durante esta etapa. La aplicación de sal inhibe el crecimiento de bacterias lácticas, por lo que disminuye la velocidad de formación de ácido; contribuye a la sinéresis del suero, e imparte sabor esencial para el producto final (Scott, 2002).

Para poder darle forma al queso, se realiza un moldeado. Éste puede hacerse colocando la cuajada en moldes o aros para que adquieran la forma típica de una variedad en particular, o pueden ser moldeados a mano, si es preciso. En seguida, se realiza un prensado mecánico, para contribuir a la eliminación final del suero, al tiempo que imparte textura y forma al queso. Por último, puede darse un acabado según la variedad. El acabado puede consistir en dejarse reposar en una atmósfera cálida, para que se forme una corteza dura, recubrirlo con cera, almacenar en condiciones especiales para que formen un revestimiento microbiano específico, entre otras (Scott, 2002).

Algunos tipos de queso se someten después a un proceso de maduración. La duración de este proceso está inversamente relacionada con el contenido de humedad del queso y puede ir de alrededor de 3 semanas a más de 2 años. Muchas variedades de quesos se pueden consumir en cualquier etapa de madurez, dependiendo de la preferencia de los consumidores o de factores económicos. Las características desarrolladas en cada queso como consecuencia

de la maduración, son resultado de una compleja serie de reacciones bioquímicas, las cuales involucran glucólisis, lipólisis y proteólisis, seguidas de otras reacciones catabólicas, como desaminación, descarboxilación y desulfurilación de aminoácidos, β -oxidación de ácidos grasos, así como otras reacciones (Fox *et al.*, 2000).

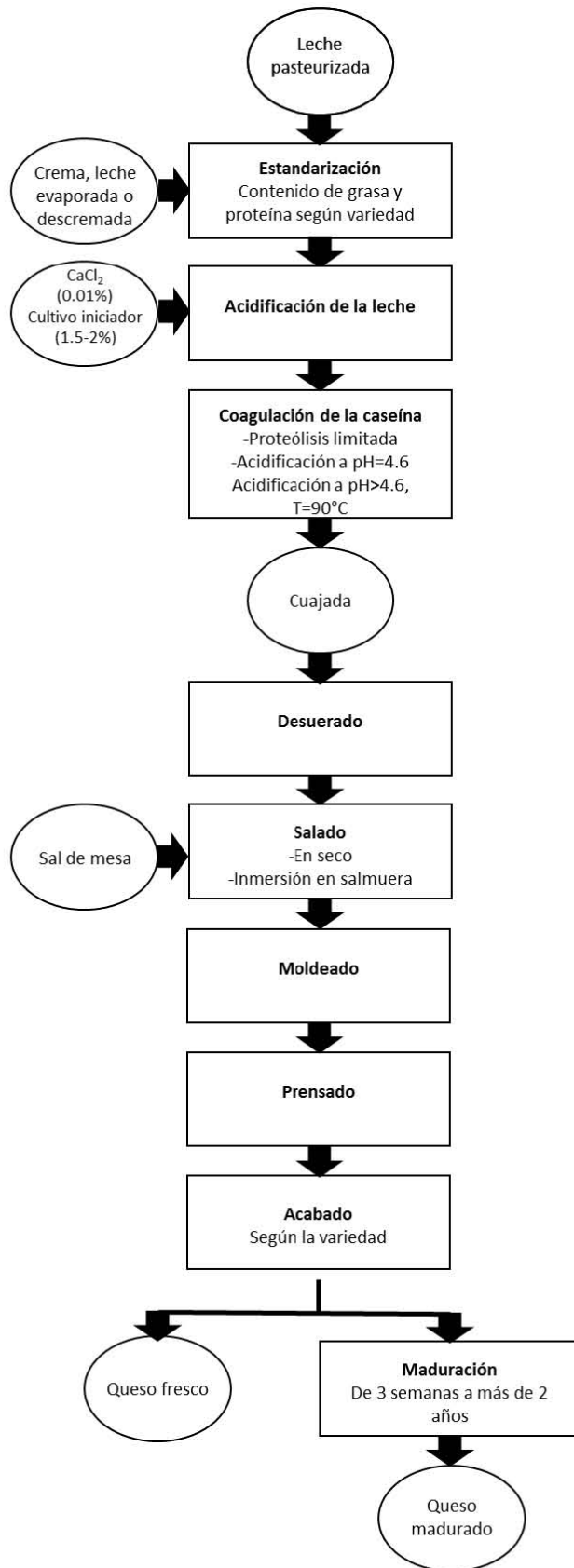


Figura 3.1. Proceso de elaboración de queso (Fox *et al.*, 2000; Scott, 2002).

Los quesos procesados difieren en que no son producidos directamente a partir de leche, sino a partir de varios ingredientes, como queso, leche descremada, agua, mantequilla, aceite, caseína, caseinatos y otros ingredientes lácteos. Ofrecen una variedad casi ilimitada de sabores, consistencia y funcionalidad; cuestan menos debido a la incorporación de ingredientes de menor costo; se pueden adaptar fácilmente al giro de comida rápida, y tienen una vida de anaquel relativamente larga (Fox *et al.*, 2000).

Para la manufactura de quesos procesados, el primer paso es formular la mezcla, que involucra la adecuada proporción de queso, sales fundentes, agua y otros ingredientes opcionales. El queso se troza y se mezcla con los otros ingredientes, para después procesarlo en la mezcladora, calentarlo a 85°C y homogeneizar la mezcla caliente. Finalmente, se enfría y se empaqueta (Figura 3.2) (Fox *et al.*, 2000).

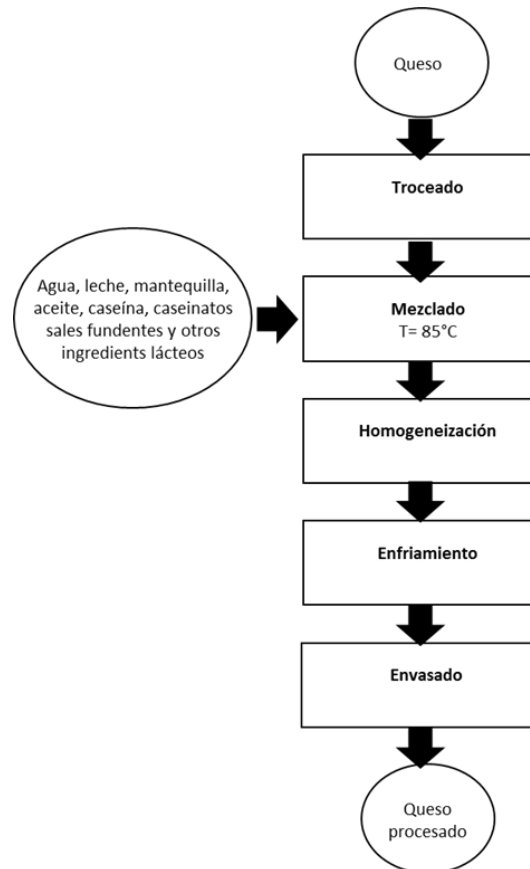


Figura 3.2. Elaboración de los quesos procesados (Fox *et al.*, 2000).

La nutrición se está dirigiendo hacia el consumo de alimentos que promuevan la salud y el bienestar, por lo que productos bajos en grasa y adicionados con probióticos y prebióticos, se están volviendo más importantes. El consumidor de hoy está consciente de su salud y exige alimentos que tengan buen sabor y que al mismo tiempo sean reducidos en grasas y calorías (Kaur & Gupta, 2002). Por este motivo, la producción de quesos reducidos o bajos en grasa se ha incrementado significativamente; sin embargo, la grasa juega un papel importante en el desarrollo del sabor, la textura y la apariencia del queso. La remoción de grasa ocasiona defectos funcionales, sensoriales y en textura, como textura gomosa, falta de sabor, amargor, presencia sabores indeseables, mala fundición y color indeseable (O'Connor & O'Brien, 2011). El uso de reemplazos de grasa, como la inulina, es la estrategia propuesta para mejorar el sabor y la textura de los quesos con bajo contenido de grasa (Sandrou & Arvantoyannis, 2000).

3.2. Quesos adicionados con inulina

Existen diversos métodos para incorporar la inulina en el queso. En el caso del queso tipo petit-suisse, se hace después del drenado, para evitar perder inulina en el suero (Cardelli *et al.*, 2008). Para el queso crema, se ha visto que puede incorporarse después del drenado, por homogeneización (Buriti *et al.*, 2007) o mezclada con la sal y añadida tras la remoción del suero (Alves *et al.*, 2013). Se ha sugerido que para queso fresco untado reducido en grasa, se añade a la crema, se calienta a 80°C y se agita durante varios minutos, para finalmente unirlo al queso fresco (Karimi *et al.*, 2015).

3.2.1. Funcionalidad de la inulina en el queso

La inulina es considerada un ingrediente funcional, pues afecta procesos fisiológicos y bioquímicos, resultando en una mejora a la salud y una reducción en el riesgo de muchas enfermedades (Karimi *et al.*, 2015). El valor calórico de la

inulina se encuentra entre 1.0 y 1.5 kcal/g (Gibson y Roberfroid, 1995) y posee un índice glucémico de 46, el cual se considera bajo (Mcdevitt-Pugh & Meyer, 2005).

La inulina de cadena larga, con un alto grado de polimerización, es menos soluble que la porción de cadena corta. La solubilidad de la inulina en agua la hace apropiada para ser utilizada como agente para aumentar el volumen de un producto. Los grupos hidroxilo de su estructura muestran una mayor capacidad para interactuar con el agua, que el resto de la estructura, lo que lleva a la inulina a presentar propiedades surfactantes y la capacidad para formar geles en agua a concentraciones entre 13 y 50% (Castelli *et al*, 2008). Estos geles proveen una buena palatabilidad, una agradable sensación en la boca y tienen características texturales similares a la grasa. (Roberfroid, 2005) La formación de gel depende de la concentración de inulina, la temperatura, la presencia de iones, el pH y la presencia de otros modificadores en el sistema alimenticio (Tugland & Meyer, 2002).

Propiedades como el largo de la cadena de inulina, así como el tamaño de partícula y la porosidad de la matriz, ejercen influencia en la capacidad de ligar agua. En el queso, el pH, la fuerza iónica, la concentración de inulina y de otros agentes ligantes de agua, también afectan la capacidad para ligar agua (Tugland & Meyer, 2002).

El uso de la inulina fomenta efectos fermentativos y prebióticos, porque metaboliza selectivamente distintas secciones del intestino delgado. La mezcla 50:50 de inulina de cadena corta y larga presenta ventajas en la efectividad, pues disminuye la cantidad de gas generado, mientras mantiene el efecto prebiótico (Ghoddusi *et al.*, 2007). Además, se ha demostrado por medio de estudios in vivo e in vitro, que la fermentación de inulina promueve el crecimiento selectivo de bacterias probióticas, como *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis* (Su *et al.*, 2007). En algunos casos se ha utilizado inulina como agente de protección térmica para probióticos, en forma de microcápsulas simbióticas (Babu & Nithyalakshmi, 2011).

La remoción de grasa en el queso implica cambios reológicos, texturales, funcionales y sensoriales, como una textura gomosa, falta de sabor, amargor, poca fundición y un color desagradable (O'Connor & O'Brien, 2011). Conforme disminuye el contenido de grasa, la matriz proteica del queso se vuelve más compacta y esto se traduce en una textura gomosa, por lo que se requiere añadir ingredientes que ayuden a mantener la calidad sensorial del producto (Mattes, 1998; Karimi *et al.*, 2015). La inulina es adecuada como reemplazo de grasa en quesos reducidos en grasa, pues contribuye a mejorar la sensación en la boca y mejora la cremosidad, al estabilizar la estructura de la fase acuosa (Ibrahim, Mehanna & Gad El-Rab, 2004).

La inulina más deseable para utilizar como reemplazo de grasa en productos lácteos, es aquella de cadena larga (DP promedio de 25) y alto peso molecular; las largas cadenas reducen la solubilidad y forman microcristales que se mezclan con el agua o leche (Kaur & Gupta, 2002). La inulina forma pequeños agregados en la fase acuosa, encapsulando una gran cantidad de agua y ocasionando una textura cremosa (Guggisberg *et al.*, 2009).

Las fibras altamente solubles, como la inulina, se utilizan para modificar la textura o reología, manejar la migración de agua y ejercer influencia sobre las propiedades coligativas de un sistema alimenticio, con la consecuencia de mejorar su sabor, sensación en la boca y vida de anaquel, promoviendo además la funcionalidad del producto alimenticio (Tunghland & Meyer, 2002).

Con una concentración mayor al 15%, la inulina forma un gel estable. Conforme la concentración de inulina aumenta, sus propiedades fisicoquímicas modifican la textura de los productos lácteos y esto puede ocasionar un efecto significativo en las propiedades sensoriales (Akin *et al.*, 2007).

3.2.2. Cambios en la textura del queso

Giri, Kanawjia & Khetra, en el año 2014, investigaron el efecto en las propiedades texturales y de fundición de un queso procesado untable con distintos niveles de inulina (0, 4, 6 y 8%). Los atributos de textura fueron medidos por medio de un texturómetro. Se observó que la dureza, que es la fuerza requerida para deformar la muestra, aumentó conforme incrementó la concentración de inulina y todas las muestras con inulina tuvieron diferencia significativa ($p < 0.05$) en este atributo, con respecto al control, pero no existió diferencia significativa en los distintos porcentajes de inulina añadida. El incremento en la firmeza puede deberse a que la inulina tiene un mayor peso molecular y una mayor capacidad para ligar agua. La fracturabilidad, la energía necesaria para cortar el alimento, fue significativamente mayor ($p < 0.05$) al comparar las muestras con inulina con la muestra control y también se encontraron diferencias entre las muestras de 4 y 6% de inulina y las muestras de 6 y 8% de inulina. La gomosidad, el grado en el que el producto se suelta en diferentes partes de la boca, disminuyó conforme el porcentaje de inulina aumentó, aunque únicamente la adición de 8% de inulina resultó significativa ($p < 0.05$) al compararla con la muestra control. La adhesividad, el trabajo necesario para vencer la fuerza de atracción entre la superficie del producto y la de la boca, disminuyó con la adición de inulina, pero no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras.

En el año 2013, Juan *et al.*, desarrollaron un queso fresco reducido en grasa, adicionado con inulina como reemplazo de grasa, con el objetivo de que tuviera características sensoriales similares al producto convencional, pero con los beneficios a la salud ocasionados por la reducción de grasa y la adición de inulina. Elaboraron un queso a partir de leche con 3.5% de grasa y otro con leche con 1.5% de grasa y 5% (w/v) de inulina. Analizaron las muestras con un texturómetro 1 día y 6 días después de su elaboración. En el primer día de almacenamiento, no se encontraron diferencias en la dureza de los quesos, pero a los 6 días, el queso reducido en grasa sin inulina fue significativamente más duro que el control

($p < 0.05$); en cambio el queso reducido en grasa y adicionado con inulina presentó la menor dureza, un valor similar al queso control. El mismo comportamiento se observó para los parámetros de elasticidad (se relaciona con la proporción de la estructura original del alimento que se rompe con la primera compresión), masticabilidad (el trabajo necesario para desintegrar un alimento y que esté listo para ser deglutido) y cohesividad (fuerza con la cual están unidas las partículas del alimento), resultando significativamente mayor ($p < 0.05$) en el queso reducido en grasa y valores similares en el control y el reducido en grasa con inulina.

Por otro lado, Salvatore *et al.*, en el año 2014, evaluaron el efecto del reemplazo de grasa con inulina (0, 2, 4 y 7%) en un queso fresco con distinto contenido de grasa (9, 7, 4 y 2%), obtenido a partir de leche estandarizada de cabra, con el fin de observar las diferencias en cuanto a textura y reología y tratar de entenderlas por medio de la técnica de microscopía electrónica. Con un texturómetro, midieron los parámetros de fuerza compresiva, dureza, viscosidad y adhesividad; así mismo, realizaron las micrografías de los quesos, a 48 horas de su elaboración. Ninguna de las muestras mostró sinéresis, ni diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto a pH. En el análisis de textura, encontraron que los valores de fuerza compresiva, dureza, viscosidad y adhesividad se redujeron significativamente ($p < 0.01$) con el incremento en el contenido de inulina, tanto a las 48 horas, como a los 20 días de almacenamiento de los quesos.

La grasa juega un papel importante en el desarrollo de la textura del queso, al distribuirse homogéneamente en la matriz de caseína (Mistry, 2001). En cambio, se tiene poca información sobre la organización de la inulina en quesos frescos y sobre cómo puede ejercer influencia en las propiedades texturales de éste. Por esta razón, Salvatore *et al.* (2014) decidieron observar la microestructura del gel utilizando la técnica de microscopía electrónica. Como se puede observar en la Figura 3.3, el queso control, sin reducción de grasa, se caracterizó por una estructura homogénea y muy compacta, compuesta por una red de micelas de caseína y grasa. Las muestras que contenían 2, 5 y 7% de inulina tuvieron una

estructura más abierta, probablemente por la reducción de grasa en la matriz proteica. La inulina se vio incrustada en el gel, con estructuras de mayor tamaño conforme la concentración de inulina en el producto era mayor. Los autores concluyeron que la presencia de inulina, dependiente de su concentración, interrumpe la red de caseína, resultando en un efecto suavizante.

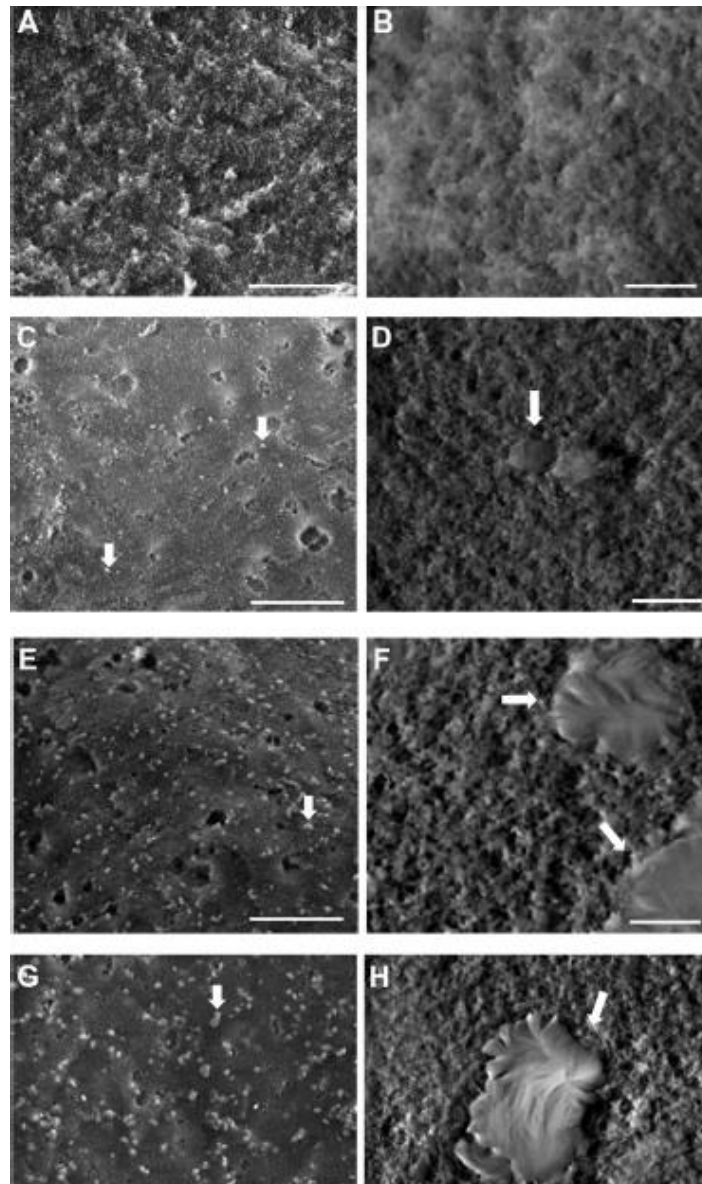


Figura 3.3. Microscopía electrónica de los quesos después de 48 horas de su fabricación. A, C y E magnificación 800x y escala 100µm; B, D, F y H magnificación 1200x y escala 5µm. A y B (9% grasa, 0% inulina), C y D (7% grasa, 2% inulina), E y F (4% grasa, 5% inulina), G y H (2% grasa, 7% inulina). Las flechas indican la inulina (Salvatore et al., 2014).

3.2.3. Cambios en la reología del queso

Giri *et al.*, en el año 2014, encontraron que incrementar el nivel de inulina en 6 y 8%, en queso procesado untable, tiene un decremento significativo ($p < 0.05$) en la viscosidad máxima, conocida como la viscosidad fundente. Esta propiedad en ocasiones se correlaciona con la calidad del producto final y una reducción puede deberse a que la interacción entre la inulina y las proteínas originan un gel débil. El agua juega un papel importante en el queso, pues permite la hidratación y solubilidad de las proteínas y la sal. La hidratación de las proteínas y su interacción con la fase grasa aseguran una buena emulsificación, lo que lleva a una buena fundición. Por lo tanto, la incorporación de inulina podría competir por el agua con las proteínas y esto repercutiría funcionalmente en el producto. La viscosidad final o de solidificación indica la capacidad del material para formar una pasta viscosa o gel después del enfriamiento. Este estudio mostró que conforme aumentaban los niveles de inulina, la viscosidad de solidificación aumentaba significativamente ($p < 0.05$), lo que señala que después de que la inulina atrapa el agua libre en la matriz del queso y tras el enfriamiento, se vuelve una pasta altamente viscosa. Los autores concluyeron que la adición de inulina a un queso procesado untable repercute significativamente en sus propiedades texturales y fundentes.

3.2.4. Cambios sensoriales

Los alimentos reducidos en grasa tienden a ser evaluados con menores puntajes que aquellos con un contenido de grasa completo, debido a que la grasa contribuye al sabor global (Devereux *et al.*, 2003). Para resolver estos problemas, una de las estrategias más comunes es la utilización de reemplazos de grasa, para compensar los problemas de textura (Sandrou & Arvantoyannis, 2000). Además, la inulina cumple esta función, sin impartir sabor al producto (Dave, 2012).

En el año 2015, Junior *et al.*, publicaron un estudio en el que analizaban las propiedades físicas, microbiológicas y sensoriales de un queso fresco, llamado Minas, elaborado con la adición de inulina y goma arábica. Elaboraron un queso con leche entera (control) y dos quesos con leche descremada, el primero con 0.02% de goma arábica y 0.49% de inulina y el segundo con el mismo porcentaje de goma arábica y 0.98% de inulina. La evaluación sensorial consistió en pruebas de aceptación utilizando una escala hedónica de 9 puntos, tomando los atributos de color, aroma, textura y sabor. Encontraron que no existieron diferencias significativas en los atributos de color, olor y textura. Únicamente hubo diferencia en cuanto al sabor, entre el control y la fórmula con 0.98% de inulina, donde ésta última fue evaluada superior.

Juan *et al.*, (2015) evaluaron sensorialmente un queso reducido en grasa, un queso reducido en grasa con inulina y un queso control, utilizando un panel de jueces entrenados, con una escala de aceptación de 9 puntos. En general, los resultados mostraron que el queso reducido en grasa con inulina tuvo una mejor aceptación que el queso reducido en grasa, la cual fue similar a la del queso control. No existieron diferencias significativas en las medias para intensidad de color, aroma y sabor de los quesos; aunque las medianas indican que el queso control y el queso reducido en grasa con inulina, recibieron calificaciones más altas que el queso reducido en grasa. En cuanto a textura, el queso reducido en grasa resultó el más duro; el queso control fue descrito como el menos granuloso y el queso reducido en grasa con inulina, como el menos elástico y más húmedo, pues la presencia de inulina modifica la estructura del queso y podría cambiar la proporción de agua libre y ligada.

3.2.5. Efecto simbiótico

Entre los productos lácteos, el queso ha demostrado ser una alternativa prometedora como vehículo para probióticos, debido a su versatilidad, atractivo organoléptico, valor nutricional y que es apto para distintos grupos de edad

(Gomes & Malcata, 1999; Rodrigues *et al.*, 2011). Además, se ha visto que el queso sirve como transporte de las bacterias probióticas al intestino, porque permite el paso de las células viables a través del tracto gastrointestinal (Madureira *et al.*, 2008).

Los quesos han mostrado ventajas tecnológicas en cuanto a la suplementación con cultivos probióticos e ingredientes prebióticos. El queso ha mostrado potencial para la prolongación de la supervivencia de probióticos en el producto y propiedades físicas y químicas que ayudan a que los probióticos lleguen al intestino, como un elevado pH, alta capacidad amortiguadora, mayor contenido de grasa y disponibilidad de nutrientes, bajo contenido de oxígeno y una matriz más densa (Karimi *et al.*, 2015).

Araújo *et al.*, en el año 2010, desarrollaron un queso cottage simbiótico, con bacterias probióticas (*L. delbrueckii* UFV H2b20) e inulina, para determinar la supervivencia de las cepas probióticas en el queso, durante su almacenamiento. Encontraron que no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) en la cuenta de bacterias durante el almacenamiento del queso a 5°C, durante 20 días. La adición de 5% de inulina no tuvo efecto en la cuenta de *L. delbrueckii* UFV H2b20. Sin embargo, el queso tuvo la cuenta necesaria para ser considerado probiótico y una concentración de inulina suficiente para ser considerado prebiótico.

Alves *et al.*, en el año 2013, evaluaron si el queso crema era adecuado para la suplementación con bacterias probióticas (*Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium animalis* Bb 12) y un ingrediente prebiótico (inulina), para ver su potencial como alimento simbiótico. Encontraron que las distintas concentraciones de inulina utilizadas no ejercieron efecto en la viabilidad de las cepas probióticas, aunque en todos los tratamientos, la cuenta de *Bifidobacterium animalis* se mantuvieron por encima de 10^6 UFC/g. Tras el estudio, concluyeron que el queso crema es una matriz alimenticia adecuada para la suplementación con bacterias

probióticas e ingredientes prebióticos, durante 45 días de almacenamiento en refrigeración.

3.2.6. Efecto en la concentración de ácido linoleico conjugado

El ácido linoleico conjugado (CLA) es un término que se refiere a los isómeros posicionales y geométricos, con insaturaciones conjugadas, del ácido octadecadienoico (18:2). Los rumiantes productores de leche y carne son considerados como la principal fuente de CLA en la dieta humana. El queso es el más representativo entre los productos lácteos (Alves *et al.*, 2011). Los isómeros de CLA han recibido creciente atención en los últimos años, debido a sus efectos benéficos a la salud, entre los que se encuentran: anticarcinogenicidad, inmunomodulación, reducción de aterosclerosis y obesidad; además de modular el metabolismo lipídico y la expresión génica en hígado, músculo y tejido adiposo (Belury, 2002).

Rodrigues *et al.*, en el año 2012, estudiaron la lipólisis en quesos probióticos y simbióticos, evaluando la influencia que ejercían las bacterias probióticas (*Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium lactis*), los compuestos prebióticos (fructooligosacáridos, inulina o una mezcla de ambos) y el tiempo de maduración en los ácidos grasos libres, especialmente el ácido linoleico conjugado. Encontraron que la adición de compuestos prebióticos no afectó significativamente ($p > 0.05$) el crecimiento de las cepas probióticas, ni en la manufactura ni durante el periodo de 60 días de maduración. En general, el contenido de ácidos grasos libres se incrementó durante la maduración en todos los quesos, pero aquellos simbióticos, con una mezcla de fructooligosacáridos e inulina (50:50) tuvieron el mayor incremento. Al final de la maduración, el contenido de isómeros de CLA en el queso con *B. lactis*, fue 1.8-1.9 veces mayor que sus contrapartes elaboradas con *L. casei*, especialmente en el caso de los que contenían la mezcla 50:50 de prebióticos.

Por otro lado, Alves *et al.*, en el año 2011, realizaron una investigación para verificar la producción de CLA en queso crema adicionado con diferentes concentraciones de una mezcla de probióticos (*Bifidobacterium animalis* y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina como prebiótico. Analizaron el contenido de ácido grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y ácido linoleico conjugado por medio de cromatografía de gases, en el día 1, 15, 30 y 45. En algunos lotes, el contenido de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados disminuyó durante el almacenamiento; esto se atribuyó a la oxidación de lípidos, pues se trata de un producto con un alto contenido de grasa y humedad. Los resultados mostraron que la adición de diferentes concentraciones de inulina y/o probióticos, no afectó el perfil lipídico ni la concentración de CLA, en comparación con el contenido de la leche cruda y del queso crema control.

Capítulo 4. El uso de la inulina como sustituto de grasa en helado

4.1. Helado

4.1.1 Definición y materias primas

El helado es un producto muy complejo que constituye un sistema alimentario cuadrifásico (emulsión, gel, suspensión y espuma). Se trata de una espuma parcialmente congelada, que contiene entre un 40 y un 50% de aire en volumen. Las burbujas de aire se encuentran en suspensión por la materia grasa emulsionada y una red de cristales de hielo; todo ello está disperso en una fase acuosa, que contiene los azúcares, proteínas e hidrocoloides, y que es la fase continua (Mahaut *et al.*, 2004).

El helado es un sistema coloidal complejo, que en su estado congelado consiste en cristales de hielo, celdas de aire y gotas de grasa dispersas en una fase continua congelada acuosa, compuesta de azúcares (sacarosa y lactosa), polisacáridos, proteínas y minerales (calcio, sodio y potasio) (Goff, 2008).

Los componentes estructurales del helado son agua, lípidos, proteínas, carbohidratos y minerales, y se encuentran separados por tres interfases: sólido/líquido, sólido/aire y aire/líquido (Mahaut *et al.*, 2004).

En muchos países sólo está permitido utilizar grasa butírica para la elaboración de helado, pero en algunos países se incorporan cantidades importantes de grasas vegetales. La materia grasa influye sobre la textura y sobre el sabor, además de limitar el crecimiento de los cristales de hielo (Mahaut *et al.*, 2004).

Los azúcares más utilizados son el jarabe de glucosa, la sacarosa y la fructosa, y generalmente suponen del 16 al 20% de la masa del helado. Realizar un aumento en el contenido de azúcar produce un descenso en el punto de congelación y, en

consecuencia, una disminución en la proporción de agua congelada y un aumento en la viscosidad, con lo que se inhibe el crecimiento de los cristales de hielo (Mahaut *et al.*, 2004).

En la elaboración de helado resulta muy importante la adición de estabilizantes en la mezcla, pues estos componentes ayudan a mejorar la textura y la resistencia a las fluctuaciones de temperatura. Como estabilizantes se pueden utilizar hidrocoloides, que son moléculas de alto peso molecular, las cuales tienen la propiedad de retener agua. Al fijar agua, los hidocoloides se hidratan y pueden formar una red, debido al establecimiento de puentes de hidrógeno. De esta forma, aumentan la viscosidad del medio y reducen la velocidad de crecimiento de los cristales de hielo (Mahaut *et al.*, 2004).

Por otro lado, los emulsificantes son moléculas anfifílicas que reducen la tensión superficial entre las fases inmiscibles y favorecen la distribución uniforme de los glóbulos grasos en la mezcla, mejorando así la textura y la formación de espuma. Estos se localizan en la interfase de la fase acuosa y de la fase hidrófoba (aire); se asocian con las proteínas, formando una película alrededor de los glóbulos grasos, impidiendo su coalescencia y favoreciendo la distribución de la materia grasa en el agua (Mahaut *et al.*, 2004).

Otros ingredientes que pueden estar presentes en el helado son: huevo, fruta y aditivos químicos. El huevo únicamente se incluye en la elaboración del helado tipo mantecado, mientras que la fruta puede incluirse en diversas formas, ya sea fresca, congelada, en puré, en jugo, en jarabe o confitada. La adición de otros aditivos, como colorantes, está restringida según las normas de cada país (Mahaut *et al.*, 2004).

El desarrollo y la estabilización de la estructura del helado son procesos dinámicos, donde la mayor parte de los componentes atraviesan cambios físicos: hidratación de los biopolímeros, cristalización de las gotas de grasa, nucleación y

cristalización del hielo, coalescencia parcial de las gotas de grasa, concentración por congelación, formación de criogeles y entrelazado de biopolímeros (Goff, 1997). Así mismo, la recristalización del hielo, la maduración de Ostwald y la cristalización de la lactosa, son fenómenos que definen la calidad organoléptica del producto final, incluyendo la cremosidad, grumosidad, aspereza, lubricación de la lengua y revestimiento de la boca (Soukoulis *et al.*, 2010).

4.1.2. Normatividad

La NOM-243-SSA1-2010 define al helado como el alimento producido mediante la congelación, con o sin agitación, de una mezcla pasteurizada compuesta por una combinación de ingredientes lácteos, pudiendo contener grasas vegetales, frutas, huevo y sus derivados, saborizantes, edulcorantes y otros aditivos; en el caso de estar empalillado se nombrará paleta. La base o mezcla para helado se refiere a la emulsión cuya composición se ajusta al helado y puede presentarse en forma líquida, concentrada o en polvo.

La NOM 243 indica los parámetros microbiológicos para los helados y bases para helado (Tabla 4.1), además de algunas otras consideraciones. Se establece que se permite la incorporación de aire limpio como coadyuvante en su elaboración; que no se permite volver a congelar los productos después de haber sido descongelados; que debe someterse a una pasteurización a 68.5°C/30min, 79.4°C/25 segundos o cualquier otra relación de tiempo-temperatura que tenga el mismo efecto y que la temperatura deberá disminuirse a 6°C antes de iniciar la congelación. En el etiquetado, no es necesario que se agregue una fecha de caducidad, pero sí debe contener la leyenda “Consérvese en congelación”.

Microorganismo	Límite máximo
Coliformes totales	≤50 UFC/g o mL
<i>Salmonella</i> spp	Ausente en 25g o mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente en 25g o mL
<i>Vibrio cholerae</i>	Ausente en 25g
Enterotoxina estafilococcica	Negativa
Mohos y levaduras	50 UFC/g o mL
Mesófilos aerobios	200,000 UFC/g o mL

Tabla 4.1. Límites máximos de contenido microbiano para Helado, establecidos por la NOM-243-SSA1-2010

4.1.3. Proceso de elaboración de helado

La fabricación de helados se divide en dos procesos tecnológicos distintos: La elaboración de la mezcla, cuyo objetivo es entremezclar las materias primas; y la fabricación propiamente dicha del helado, donde se incluye el envasado y el endurecimiento del producto (Buchner, 1985).

El mezclado se inicia con las fases líquidas y a continuación se disuelven o dispersan los componentes sólidos (Figura 4.1) (Buchner, 1985). La mezcla se realiza en un tanque a una temperatura entre 50 y 60°C. Después del mezclado, se calienta a 70°C y se realiza la homogeneización de todos los ingredientes. Se continúa calentando hasta llegar a una temperatura de 85-90°C durante 30 segundos, lo que consiste en una pasteurización. La pasteurización destruye a la flora patógena, reduce la flora total, y favorece la desnaturalización de las proteínas. Además, la alta temperatura permite una mejor hidratación y facilita la disolución de los azúcares, emulsificantes y estabilizantes (Mahaut *et al.*, 2004).

Tras la pasteurización, se enfría la mezcla a 4-6°C y se mantiene un mínimo de 3 horas con agitación lenta, para que ocurra una maduración. El objetivo de este paso es lograr la cristalización parcial de la materia grasa. La membrana externa del glóbulo graso se endurece porque está constituida por ácidos grasos de alto punto de fusión, mientras que la parte central del glóbulo permanece líquida. La maduración tiene una duración promedio de 3 a 5 horas cuando se trata de grasa butírica, pero sólo se requiere alrededor de 1 hora y media cuando se trata de

aceites de colza o de palma, pues su riqueza en ácidos grasos de cadena larga y saturados se traduce en una temperatura de fusión más elevada (Mahaut *et al.*, 2004).

El siguiente paso es el glaseado o pre congelación e incorporación de aire. De forma simultánea, la mezcla se espuma, se congela y se agita en un intercambiador de calor, cuya pared está a una temperatura de -40°C . El producto se extrusiona de -2 a -7°C con un aumento porcentual del volumen determinado. En esta etapa se forman los cristales de hielo, que representan entre el 30 y el 70% de la cantidad inicial de agua, así como también se produce la crioconcentración de los glóbulos grasos, azúcares, proteínas y estabilizantes. Con la agitación pueden romperse las membranas de los glóbulos grasos, con lo que se libera la materia grasa y se esparce, formando una película que rodea parcialmente a las burbujas de aire. Esta materia grasa líquida sirve de aglomerante entre algunos glóbulos grasos; este efecto se conoce como “arracimado” y es deseable porque mejora las características organolépticas del helado. Mientras que las proteínas y los estabilizantes favorecen la incorporación de aire y contribuyen a la estabilidad de la espuma, la grasa y los fosfolípidos se sitúan en la interfase agua/aire y pueden tener un efecto depresor. El tamaño de las burbujas de aire influye sobre la textura, pues las burbujas grandes le dan una textura de nieve y las pequeñas una textura más cremosa (Mahaut *et al.*, 2004).

La masa se encuentra aún en estado maleable al salir del congelador, por lo que a continuación se realiza el moldeado, confiriéndole forma definitiva al helado antes de proceder a su congelación profunda. El moldeado puede hacerse en moldes o directamente en los envases comerciales. Una vez moldeado, pasa por un túnel de congelación a -40°C ; este sistema permite bajar la temperatura del producto rápidamente hasta -15°C , para congelar hasta un 80% del agua y evitar el crecimiento de los cristales. Para obtener un helado untuoso y estable, es necesario crear el mayor número posible de cristales durante la etapa inicial de la congelación. Para obtener muchos y pequeños cristales, la temperatura debe ser

muy inferior al punto de congelación y el enfriamiento tiene que ser lo más rápido posible. Los cristales de más de 60 μm de diámetro son perceptibles en la boca e imparten al producto una textura granulosa. El tamaño de los cristales puede modificarse durante el envejecimiento, ya sea por recristalización o por aglomeración de los cristales de hielo (Mahaut *et al.*, 2004).

Finalmente, el producto se termina de envasar en el interior de cámaras frías, para evitar la fluctuación de la temperatura. Para garantizar una buena conservación, es necesario mantener la cadena de frío. Los productos se almacenan a -30°C , se transportan entre -25 y -30°C , se distribuyen entre -20 y -25°C y deben mantenerse en el congelador doméstico a -18°C (Mahaut *et al.*, 2004).

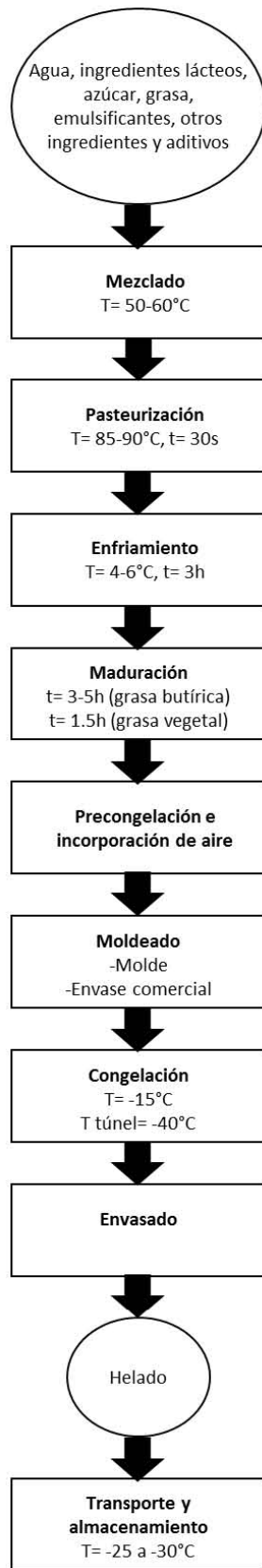


Figura 4.1. Proceso de elaboración de helado (Mahaut et al., 2004).

4.2. Helado de yogurt

El helado de yogurt es un postre lácteo y fermentado, que combina las características físicas del helado, con el sabor y propiedades nutrimentales de los productos lácteos fermentados (Soukoulis & Tzia, 2008). Se trata de un producto nutritivo, con un sabor fresco y una vida de anaquel más larga que la del yogurt (Güven & Karaca, 2002). Los consumidores lo eligen como una opción que contiene menos lactosa que el helado, pero con un contenido similar de grasa, además de brindarles beneficios a la salud debido a las bacterias contenidas en él (Marshall, 2001).

El helado de yogurt adicionado con probióticos provee beneficios a la salud, aunque este ambiente no es óptimo para la supervivencia de las bacterias (Davidson *et al.* 2000). Los microorganismos probióticos, en ambientes congelados y aereados, como el yogurt congelado y el helado, pueden verse afectados por la presencia de oxígeno, así como las bajas temperaturas. En el caso del helado de yogurt, la acidez también puede ser un factor que afecte la viabilidad de los probióticos (Magarinos *et al.* 2007).

La formación de cristales debido a la fluctuación en la temperatura durante el almacenamiento de helados, puede ocasionar la ruptura de las células bacterianas y reducir así su viabilidad (Davidson *et al.* 2000). Por ello, los productores están interesados en desarrollar un proceso que mejore la viabilidad de las cepas probióticas en el producto (Talwalkar & Kailaspathy, 2004).

4.3. Helados adicionados con inulina

En las últimas dos décadas la ciencia y tecnología del helado han tenido importantes progresos en la exploración y el entendimiento de la estructura e interacciones que ocurren en el almacenamiento de este producto. Esto ha permitido que se empiecen a incorporar ingredientes funcionales que mejoren

algún aspecto técnico, como la viscosidad, crioprotección, emulsificación o atrapamiento de agua, pero que además mejore los aspectos nutrimentales (Soukoulis *et al.*, 2014).

El helado es conocido por ser un producto lácteo con alto contenido de grasa, alto contenido de azúcar e hiper calórico. La sustitución de la grasa por un ingrediente prebiótico puede crear un producto más saludable (Lum & Albrecht, 2008).

Por lo general, el helado contiene de 10 a 16% de grasa (Mahaut *et al.*, 2004). La grasa butírica es un constituyente importante de la textura, cuerpo y color en productos lácteos, como el helado. La reducción de grasa en el helado puede ocasionar algunos defectos, como la deficiencia en sabor, cuerpo débil y textura pobre (Haque & Ji, 2003). La grasa se puede reducir parcialmente al reemplazarla con ingredientes de bajo aporte calórico. Estos ingredientes pueden resolver algunos de los problemas físicos y sensoriales resultantes de la reducción de grasa (Tiwari *et al.*, 2014).

4.3.1. Funcionalidad de la inulina en el helado

La inulina es particularmente adecuada como reemplazo de grasa en productos como el helado, debido a su capacidad para formar geles, proveer buen cuerpo, textura y sensación en la boca; además de tener un sabor neutral y estar aceptado como un agente texturizante de bajo aporte calórico (Tungland & Meyer, 2002). En concentraciones elevadas, la inulina adquiere una estructura como gel, de apariencia blanca y cremosa, que puede ser incorporada en los productos para reemplazar la grasa hasta en un 100% (Tiwari *et al.*, 2014).

Se han realizado estudios utilizando a la inulina como reemplazo de grasa en helado de yogurt, así como para incrementar la viabilidad de probióticos en helado, encontrando que con ella se mejora la supervivencia de los probióticos durante el almacenamiento (Akalin & Erisir, 2008).

La inulina facilita la incorporación de aire y la estabilización de la espuma, al incrementar la viscosidad de la fase acuosa y rodear a la célula, generando una barrera física y evitando la desestabilización por maduración de Ostwald (Herceg *et al.* 2007).

4.3.2. Cambios en los parámetros fisicoquímicos y sensoriales

Rezaei *et al.*, en el año 2014, produjeron helado de yogurt con niveles altos de probióticos (0.2%) e inulina (0,1 y 2%), con el objetivo de determinar la supervivencia de los probióticos durante el almacenamiento y examinar el cambio en las propiedades fisicoquímicas del producto. En cuanto a las características fisicoquímicas de las muestras, encontraron que la muestra con 2% de inulina tuvo el pH más bajo, siendo significativamente distinto al control ($p < 0.05$).

Por otro lado, la viscosidad se vio afectada con un incremento significativo en las muestras con inulina con respecto al control ($p < 0.05$), aunque no existió diferencia entre las dos concentraciones de inulina. Esto refuerza los hallazgos de Adapa *et al.* (2000), quienes encontraron que las mezclas de helado con carbohidratos como reemplazo de grasa exhibían un mejor comportamiento que otros, debido a su capacidad para atrapar agua, formando una red tipo gel y logrando un incremento en la viscosidad.

La adición de inulina también afectó el sobre rendimiento del helado, con un incremento significativo en las muestras con inulina al 1 y 2%, tanto comparadas con el control, como entre sí ($p < 0.05$). El sobre rendimiento depende de la cantidad de aire atrapada y ejerce influencia en la calidad del producto. En 2008, Moeenfarid y Mazaheri propusieron que existe una relación entre la viscosidad y el sobre rendimiento, de tal forma que un incremento en la viscosidad genera una mejora en el sobre rendimiento; tal como se observó en el estudio de Rezaei *et al.* (2014)

En cuanto al tiempo para el derretimiento del helado, éste se vio prolongado significativamente ($p < 0.05$) en la muestra con 2% de inulina, aunque la muestra con 1% de inulina fue similar al control. La inulina forma una red pegajosa que genera una mayor resistencia al derretimiento (El-Nagar et al. 2002). También se ha visto que los helados que tienen un mayor sobre rendimiento, tienden a derretirse más despacio (Sofjan & Hartel, 2004), por lo que el incremento en el tiempo de derretimiento puede atribuirse a una menor velocidad de transferencia de calor en el aire atrapado en la mezcla (Rezaei *et al.*, 2014).

Tiwari *et al.*, en el año 2014, evaluaron la adición de inulina en las propiedades fisicoquímicas, reológicas y sensoriales de un helado bajo en grasa, con distintas proporciones de inulina y grasa. En cuanto a la evaluación sensorial, no encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el control y las muestras con 2, 4 y 6% de inulina, aunque el helado con 6% de inulina fue el que tuvo puntajes menores.

En el análisis de textura, realizado por medio de un texturómetro, se observó que la dureza en los helados con inulina (2-6%) fue mayor que en el control. La relación inversa se encontró entre el contenido de grasa y la dureza. Es probable que la dureza incremente con la adición de inulina, debido a su alto grado de polimerización y la habilidad de formar microcristales, que interactúan para formar una textura cremosa (Tiwari *et al.*, 2014).

También se presentaron diferencias significativas en cuanto a viscosidad ($p < 0.05$); la viscosidad de las mezclas disminuyó conforme se aumentó la incorporación de inulina. Este resultado contrasta por el presentado por Rezaei *et al.* en el mismo año. Esto sugiere que la interacción entre los microcristales de inulina es menor que la interacción entre los glóbulos de grasa (Tiwari *et al.*, 2014).

A diferencia del estudio de Rezaei *et al.* (2014), en este caso, el tiempo de derretimiento fue significativamente menor ($p < 0.05$) en las muestras con inulina.

Los investigadores esperaban este resultado, pues la grasa butírica tiene un coeficiente de transferencia de calor menor que la fase acuosa de las mezclas de helados (Tiwari *et al.*, 2014).

Hashemi *et al.*, en el año 2014, condujeron un experimento para comparar la adición de probióticos (*Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) y prebióticos (inulina y lactulosa) en las distintas combinaciones posibles. Sus resultados en cuanto al efecto de la inulina en el sobre rendimiento y la viscosidad coinciden con lo encontrado por Rezaei *et al.* (2014), pues obtuvieron que la adición de inulina incrementa el sobre rendimiento y la viscosidad ($p < 0.01$). Sin embargo, en este caso la velocidad de derretimiento no se vio influenciada por la adición de probióticos ni prebióticos ($p > 0.05$).

4.3.3. Helados con probióticos e inulina

Algunas investigaciones han mostrado que los cultivos probióticos pueden mantener mejor su estabilidad en productos congelados, en comparación con leches fermentadas (Alamprese *et al.*, 2002; Kailaspathy & Sultana, 2003; Aryana & Summers, 2006).

Los probióticos pueden incorporarse al helado en forma libre o microencapsulados. Para el primer caso, los probióticos se añaden a una base de leche fermentada o acidificada, que se mezcla con la base de helado en la producción de éste. En el segundo caso, se inoculan directamente a la mezcla de helado, previo al batido. La inoculación directa permite que exista fermentación parcial o total o que no exista fermentación, dependiendo de las características sensoriales deseadas (Soukoulis & Tzia, 2008). Encapsular a las bacterias probióticas en matrices de biopolímeros facilita el proceso de manufactura, ya que no se requiere utilizar una preparación para el cultivo. Además, reduce el estrés osmótico y mecánico que provoca daño a las células de los probióticos (Homayouni *et al.*, 2008). Diversos factores han reportado tener impacto

significativo en la viabilidad de bacterias probióticas. Estos factores son el proceso de congelación y post congelación, así como los parámetros de pH, composición y presencia de oxígeno (Mohammadi *et al.*, 2011).

Mohammadi *et al.*, en el año 2011, revisaron la supervivencia de bacterias probióticas en distintos tipos de helado, así como métodos para mejorar la viabilidad de éstas y los atributos sensoriales del helado. Concluyeron que la adición de probióticos en el helado es ventajosa por los beneficios a la salud que esto conlleva. Encontraron que la producción y el almacenamiento en congelación tienen relativamente poco efecto en la supervivencia de probióticos y que se ha mostrado que estos se mantienen en niveles suficientes para promover los efectos terapéuticos a los que se asocian. Ellos coinciden en que uno de los factores que afectan la viabilidad de los probióticos en el helado, es el estrés al que se ven sometidas las células, el cual depende de la formulación, el sobre rendimiento y las condiciones de almacenamiento. Proponen algunos métodos para mejorar la viabilidad de probióticos en helado, como la selección de cepas robustas, la eliminación del oxígeno molecular, realizar ajustes en la formulación del proceso y utilizar técnicas de microencapsulación para añadir los probióticos.

Los resultados del estudio de Rezaei *et al.*, (2014) mostraron que las cuentas de microorganismos probióticos en helado de yogurt disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento. Esto ocurrió a pesar de que estudios previos (Holcomb & Frank, 1991) establecieron que las mezclas de helado de yogurt cuentan con propiedades crioprotectoras, debido a la presencia de caseína, lactosa y sacarosa. Este decremento en los probióticos pudo deberse a un choque térmico durante la congelación y a la presión osmótica. El sobre rendimiento también podría afectar la supervivencia de los probióticos, pues algunos, como *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp., son microaerofílicos. Por último, la formación de cristales de hielo durante la congelación y el estrés mecánico pueden contribuir a la pérdida de probióticos.

En las muestras de helado de yogurt elaboradas por Rezaei *et al.*, (2014) la reducción de *Bifidobacterium* spp. fue mayor que la de *Lactobacillus acidophilus*, a pesar de que el primero se encontraba en mayor proporción inicialmente. La supervivencia de *Bifidobacterium* spp. se vio más afectada por la acidez y fue más sensible a la incorporación de aire. A pesar de la reducción encontrada, a los 60 días de almacenamiento, el producto contenía un número apropiado de bacterias (10^6 log UFC/g) para conferir efectos benéficos a los consumidores. Con respecto a la adición de inulina, se observó un descenso menor en las cuentas de probióticos de las muestras con inulina, con respecto al control, tanto con 1% como con 2% de inulina. Tras 60 días de almacenamiento, se obtuvo una reducción de los microorganismos de 26.14% en la muestra con 1% de inulina y 22.14% en la muestra con 2% de inulina, mientras que el control presentó una reducción de 69.94%.

Hashemi *et al.*, en el año 2014, no encontraron diferencias significativas entre las cuentas de microorganismos para los diferentes grupos experimentales, tanto probióticos como simbióticos. En general, existió un decremento en la cuenta después del primer día de almacenamiento. Esto pudo deberse a la formación de cristales debido al estrés mecánico de la mezcla y al proceso de congelación; además de la incorporación de oxígeno, tóxico para *Bifidobacterium*, durante el mezclado. La disminución en el número de bacterias a los 30 días de almacenamiento fue significativo ($p < 0.01$) en todas las muestras; aunque se observó que la cuenta de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* en todas las muestras superó el límite necesario para ser considerado benéfico para la salud (6 log UFC/g). Desafortunadamente, la adición de *B. animalis* spp. *lactis* tuvo un efecto negativo en el sabor y sensación en la boca, al ser comparado con el control ($p < 0.01$); probablemente debido a la producción de ácido acético. Este efecto negativo se vio enmascarado en las muestras con inulina y lactulosa, las cuales no fueron evaluadas de manera diferente al control.

Shah y Ravula reportaron en el año 2000, que la supervivencia de las bacterias probióticas en postres fermentados congelados mejoraba con la encapsulación, ya que las microcápsulas protegen a las células bacterianas de condiciones ambientales duras, así como del estrés durante el congelamiento. En el año 2014, Ahmadi *et al.*, evaluaron la viabilidad de células de *Lactobacillus acidophilus* libres y encapsuladas en helado de yogurt con fructooligosacáridos. Los resultados mostraron que existió un decremento de 0.5 a 1 ciclo logarítmico en la cuenta de células probióticas libres inmediatamente después de la congelación, indicando que este proceso tiene efectos destructivos en las células probióticas. En 60 días de almacenamiento, la cuenta bajó en 1.5-2 ciclos logarítmicos; mientras que en las células encapsuladas, la disminución fue de menos de 1 ciclo logarítmico.

Discusión

Poco a poco los consumidores han adquirido conciencia acerca del papel que juega la dieta en la salud y de la existencia de algunos productos, como los alimentos funcionales, que pueden cumplir con el objetivo principal de proveer energía, al mismo tiempo que confieren beneficios adicionales a la salud. El consumidor se muestra cada vez más dispuesto a consumir e incluso a pagar más por productos que puedan beneficiar su salud y reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas, como cáncer y enfermedades cardíacas. Además, recientemente se ha buscado dirigir los recursos en materia de salud hacia generar una cultura de prevención de enfermedades, en vez de apelar únicamente a la cura de éstas, una vez que se presentan. Estas dos situaciones han permitido el desarrollo de alimentos funcionales y su introducción y expansión en el mercado de distintas partes del mundo.

En México, uno de los problemas más importantes de salud pública hoy en día es el tema del sobrepeso y la obesidad, que se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. México ocupa el segundo lugar en la OCDE en cuanto a obesidad, siendo superado únicamente por Estados Unidos. Además, la cifra ha ido en aumento del año 2000 a la actualidad. Esto demuestra que las estrategias que se han abordado para atacar este problema han resultado ineficientes y deben buscarse alternativas que contribuyan a disminuir la incidencia de sobrepeso y obesidad.

La ingesta de alimentos con alto aporte calórico y la nula actividad física son factores que se relacionan con el sobrepeso y la obesidad, por lo que buscar una dieta de menor aporte calórico es una forma de empezar a atacar este problema. La grasa aporta 9 Kcal por cada gramo de producto, más del doble que las proteínas y los carbohidratos, que aportan 4 Kcal por cada gramo. Por este motivo, desarrollar alimentos con un bajo contenido de grasa es una buena estrategia para reducir la ingesta de calorías de manera significativa. Sin embargo,

para que los productos sean aceptados por el consumidor y compitan con productos con un contenido total de grasa, los nuevos productos deben ser similares en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales. Por ello, no se puede recurrir únicamente a disminuir el contenido de grasa de los productos alimenticios, sino que se debe encontrar algún reemplazo capaz de imitar el comportamiento de la grasa, pero que al mismo tiempo tenga un aporte bajo o nulo de calorías. Los derivados lácteos bajos en grasa se han descrito como parte de un patrón saludable de alimentación por sus múltiples beneficios a la salud, así que son un buen sector alimenticio para implementar la sustitución de grasa.

La inulina cumple con estas dos condiciones, pues se trata de un carbohidrato no digerible, es decir, que no aporta calorías y puede actuar como reemplazo de grasa debido a su capacidad para formar microcristales, los cuales interactúan entre sí, formando pequeños agregados, que se aglomeran en una red tipo gel. Como una ventaja extra, la inulina es un prebiótico, que al no ser procesado por las enzimas digestivas, llega al colon, donde sirve de sustrato a las bacterias benéficas que ahí residen, que incluyen especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*. Entonces, al consumir productos cuya grasa ha sido sustituida parcial o totalmente con inulina, se logrará una reducción en la ingesta calórica, al mismo tiempo que se promoverá una mejora en la salud intestinal, gracias a la proliferación de las bacterias probióticas del colon.

Las ventajas pueden ser aún mayores si se elaboran productos adicionados con probióticos, que son microorganismos vivos que, cuando se administran en una dosis adecuada, confieren beneficios a la salud del huésped. Cabe mencionar que se considera a los derivados lácteos como buenos vehículos de probióticos y que la combinación de estos con prebióticos, como la inulina, es conocida como una combinación simbiótica, donde se duplican los beneficios de ambos ingredientes. De esta forma, además de reducir la ingesta calórica mediante la reducción de grasa, es posible mejorar la salud del huésped utilizando una combinación simbiótica.

Se abordaron tres derivados lácteos, que son de gran consumo a nivel mundial y en México y estos son: yogurt, queso y helado. Todos ellos son una matriz adecuada para la incorporación de inulina como sustituto de grasa y pueden ser utilizados como vehículos de bacterias probióticas, cuya supervivencia puede verse favorecida con la adición de inulina.

El yogurt es uno de los productos lácteos más populares por el alto contenido de proteína y calcio y los beneficios a la salud que confiere. Elaborar yogurt a partir de leche descremada resulta ideal porque mantiene el contenido elevado de proteínas y evita la ingesta excesiva de grasa, pero hacerlo sin encontrar un sustituto de grasa adecuado puede llevar a que se presenten problemas fisicoquímicos y sensoriales, como la disminución en la viscosidad, estabilidad de la cuajada y palatabilidad. Muestras de yogurt con inulina observadas al microscopio revelaron que la inulina formó estructuras alargadas que se mezclaron con la red de proteínas, lo que evitó que aparecieran los problemas relacionados a la sustracción de grasa del producto, mejorando la firmeza, aumentando la viscosidad y obteniendo atributos sensoriales similares a los de un homólogo con un contenido mayor de grasa.

El yogurt también es conocido por ser utilizado como vehículo para bacterias probióticas, que se desea que lleguen viables al intestino de los consumidores. La adición de inulina ha probado mejorar la supervivencia y actividad de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* y *Lactobacillus casei* en yogurt durante su almacenamiento, por lo que su adición en yogurt no sólo es benéfica por la reducción de grasa, sino que en conjunto con bacterias probióticas, genera un efecto benéfico al intestino de los consumidores.

El queso es un producto lácteo consumido desde hace miles de años, en los cuales se han ido originando todas las variedades que existen actualmente. Los quesos pueden llegar a tener un contenido muy alto de grasa, desde 10% hasta

60%, por lo que una reducción de grasa, aunque sea parcial, puede resultar en una disminución importante del aporte calórico del producto. Sin embargo, al igual que en el caso del yogurt, la reducción de grasa en el queso puede significar una reducción en la palatabilidad y el sabor, así como en la capacidad de fundición y la suavidad del producto. La adición de inulina ayuda a compensar el aumento en la dureza que se genera al reducir el contenido de grasa, al mismo tiempo que mejora su elasticidad y masticabilidad; la presencia de inulina interrumpe la red de caseína del queso, generando un efecto suavizante. La inulina también contribuye al aspecto sensorial, pues el color, olor, textura y sabor se aprecian como similares a un queso que no ha sido reducido en grasa. Algunos quesos, como el queso crema, pueden ser excelentes vehículos para la adición de bacterias probióticas y la inulina puede ayudar a su supervivencia, además de fungir como sustituto de grasa.

El helado es un postre lácteo y por sus características, se trata de un producto con un alto contenido de azúcar y grasa, por lo que en realidad no es un producto tan recomendable como el yogurt o el queso si se está buscando incluir en la dieta productos de bajo aporte calórico. Aun así, recientemente se han hecho esfuerzos por reducir el contenido de grasa en el helado adicionando un prebiótico, como la inulina. La inulina es capaz de corregir la deficiencia en sabor, cuerpo débil y textura pobre, que se presentan como resultado de la reducción de grasa. Gracias a su capacidad para formar geles, contribuyendo al buen cuerpo y sin interferir en el sabor, se ha aceptado a la inulina como un buen agente texturizante para helados, con la ventaja de tener un bajo aporte calórico. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que aunque se reduzca el contenido de grasa en el helado, éste aún será un producto con un alto contenido de azúcar, por lo que seguirá aportando una gran cantidad de calorías al ser consumido.

En general, se concluye que la reducción de grasa en los productos alimenticios disponibles hoy en día es de vital importancia sobre todo en una sociedad como la mexicana, que ha padecido de sobre peso y obesidad en una gran parte de su

población, encontrándose entre los primeros lugares de estos padecimientos a nivel mundial. Como no puede dejarse de lado las preferencias de los consumidores, es necesario buscar la forma de proveer productos con un menor aporte calórico, sin que estos se vean afectados en sus características fisicoquímicas y sensoriales, al grado de que los consumidores no los acepten y sigan optando por las versiones con un mayor aporte calórico.

Al mismo tiempo, puede aprovecharse la característica de la inulina como alimento funcional, para mejorar la salud del intestino de los consumidores al tiempo que se reduce la ingesta de grasa. De esta forma, además de atacar el problema de la obesidad, se podrá disminuir la incidencia de algunas enfermedades crónicas, como el cáncer de colon.

Por último, cabe mencionar que la mayoría de las investigaciones referidas al respecto de este tema se han realizado en otros países, por lo que sería útil tomarlas como punto de partida para implementar en México la reducción de grasa en derivados lácteos, tanto a nivel de investigación como llevarlo a cabo a nivel industrial, para lograr así el beneficio de la población.

Conclusiones

Se abordaron algunas investigaciones sobre la adición de inulina en productos lácteos, que se han llevado a cabo en los últimos 5 años, enfocando la atención en yogurt, queso y helado. Estos tres derivados lácteos constituyen una matriz adecuada para la incorporación de inulina como sustituto de grasa, así como vehículo de bacterias probióticas.

En el yogurt la inulina formó estructuras alargadas, las cuales estaban mezcladas en la red de proteínas. Este arreglo evitó que aparecieran problemas debido a la sustracción de la grasa del producto y se observó que se lograba una mejora en la firmeza, un aumento en la viscosidad y atributos sensoriales similares a los de un yogurt con un contenido mayor de grasa.

La adición de inulina en el queso interrumpe la red de caseínas, generando un efecto suavizante, lo que ayuda a compensar el aumento en la dureza ocasionado por la disminución de grasa. También contribuye al aspecto sensorial, logrando que el color, olor, textura y sabor sean similares a los de un queso que no ha sido reducido en grasa. De igual forma, la inulina puede mejorar la supervivencia de bacterias probióticas en algunos tipos de quesos.

La inulina se ha aceptado como un buen agente texturizante para helados debido a su capacidad para formar geles, contribuyendo al buen cuerpo y sin que presente interferencias en el sabor; además de tener la ventaja de tener un bajo aporte calórico. Por otro lado, aunque se reduzca el contenido de grasa en el helado, éste seguirá siendo un producto con un alto aporte calórico, debido a su contenido de azúcar.

La reducción de grasa en los productos alimenticios es importante en una sociedad como la mexicana, que tiene problemas de sobre peso y obesidad en un gran porcentaje de su población. Buscar la forma de proveer alimentos con un menor aporte calórico pero conservando las características sensoriales originales puede ayudar a que los consumidores opten por incluir este tipo de productos en su dieta. Estas investigaciones podrían tomarse como punto de partida para buscar la reducción de grasa en derivados lácteos en México.

Referencias

- 1) Adapa, S., Dingeldein, H., Schemidt, K., & Herald, T. (2000). Rheological properties of ice cream mixes and frozen ice cream containing fat and fat replacer. *Journal of Dairy Science*, 83, 2224–2229.
- 2) Ahmadi, A., Milani, E., Madadlou, A., Mortazavi, S., Mokarram, R., & Salarbashi, D. (2014). Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* (Ia-5) and fructooligosaccharide. *Journal of Food Science and Technology*, 51 (8), 1568-1574. Doi: 10.1007/s13197-012-0679-y
- 3) Akalin, A., Fenderya, S., & Akbulut, N. (2004). Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 39, 613-621. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.00829.x
- 4) Akalin, S., & Erisir, D. (2008). Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low fat probiotic ice cream. *Journal of Food Science*, 73, 184-188. Doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00728.x
- 5) Akin, B., Akin, S., & Kirmaci, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. *Food Chemistry*, 104, 93-99. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.11.030
- 6) Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., & Savani, L. (2002). Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. *International Dairy Journal*, 12, 201-208. Doi: 10.1016/S0958-6946(01)00159-5
- 7) Allsopp, P., Possemiers, S., Campbell, D., Oyarzábal, I., Gill, C., & Rowland, I. (2013). An exploratory study into the putative prebiotic activity of fructans isolated from *Agave angustifolia* and the associated anticancer activity. *Anaerobe*, 22, 38-44. Doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.05.006
- 8) Al-Sheraji, S., Ismail, A., Manap, M., Mustafa, S., Yusof, R., & Hassan, F. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 5, 1542-1553. Doi: 10.1016/j.jff.2013.08.009

- 9) Alves, L., Richards, N., Mattanna, P., Andrade, D., Rezer, A., Milani, L., Cruz, A. & Faria, J. (2013). Cream cheese as a symbiotic food carrier using *Bifidobacterium animalis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 66 (1), 63-69. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2012.00880.x
- 10) Alves, L., Richards, N., Mariutti, R., Nogueira, G. & Bragagnolo, N. (2011). Inulin and probiotic concentration effects on fatty and linoleic conjugated acids in cream cheeses. *European Food Research and Technology*, 233, 667-675. Doi: 10.1007/s00217-011-1558-x
- 11) Alvidez-Morales, A., González-Martínez, B., & Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: Alimentos funcionales. *Revista de Salud Pública y Nutrición*, 3, 1-6. Obtenido de www.medigrafic.org.mx
- 12) Alzamora, S., Salvatori, D., Tapia, S., López-Malo, M., Welti-Chanes, J., & Fito, P. (2005). Novel Functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, 67, 205-214. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.05.067
- 13) Araújo, E., Carvalho, A., Leandro, E., Furtado, M. & Moraes, C. (2010). Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 and inulin. *Journal of Functional Foods*, 2, 85-89. Obtenido de ScienceDirect, Elsevier. Obtenido de www.elsevier.com
- 14) Arora, T., Sharma, R., & Frost, G. (2011). Propionate. Anti-obesity and satiety enhancing factor. *Appetite*, 56, 511-515. Doi: 10.1016/j.appet.2011.01.016
- 15) Aryana, K., & Summers, M. (2006). Probiotic fat-free, no sugar added ice cream. *Milchwissenschaft*, 61, 184-187.
- 16) Ávila-Fernández, A., Galicia-Lagunas, N., Rodríguez-Alegría, M., Olvera, C., & López-Munguía, A. (2011). Production of functional oligosaccharides through limited acid hydrolysis of agave fructans. *Food Chemistry*, 129, 380-386. Doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.088
- 17) Babio, N., Balanza, R., Basulto, J., Bulló, M., & Salas-Salvadó, J. (2010). Dietary fiber: Influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile. *Nutrición hospitalaria*, 25, 327-340. Doi: 10.3305/nh.2010.25.3.4459
- 18) Baboota, R., Bishnoi, M., Ambalam, P., Kondepudi, K., Sarma, S., Boparai, R., & Podili, K. (2013). Functional food ingredients for the management of obesity and associated co-morbidities-A review. *Journal of Functional Foods*, 5, 997-1012. Doi: 10.1016/j.jff.2013.04.014

- 19) Babu, G., & Nithyalakshmi, V. (2011). Influence of prebiotic composition on probiotic survivability in calcium alginate coated symbiotic microcapsules at thermal incubation. *Agricultural Journal*, 6, 231-236. Doi: 10.3923/aj.2011.231.236
- 20) Banks, J. M. (1998). Queso. En R. Early (Ed.), *Tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Editorial Acriba S.A. pp. 85-125.
- 21) Belury, M. (2002). Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: Potential mechanisms of action. *Journal of Nutrition*, 132, 2995-2998.
- 22) Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31, 118-129. Doi: 10.1016/j.tifs.2013.03.006
- 23) Bornet, F., Brouns, F., Tashiro, Y., & Duviller, V. (2002). Nutritional aspect of short-chain fructooligosaccharides: Natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. *Digestive and liver Disease*, 34, 111-120. Doi: 10.1016/S1590-8658(02)80177-3
- 24) Bouhnik, Y., Achour, L., Paineau, D., Riottot, M., Attar, A., & Bornet, F. (2007). Four-week short chain fructooligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidibacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. *Nutrition Journal*, 6, 42. Doi: 10.1186/1475-2891-6-42
- 25) Brighenti, F. (2007). Dietary and serum triacylglycerols: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Nutrition*, 137, 2552-2556.
- 26) Brunser, O., & Gotteland, M. (2010). Probiotics and Prebiotics in Human Health: An overview. En: Watson, R., Preedy, V. eds. *Bioactive Foods in Promoting Health*. London: Academic Press, capítulo 6. Pp.84-88.
- 27) Buchner, H. (1985). Tecnología de la fabricación de helados. *Fabricación de helados*. E Timm, F. ed. Zaragoza: Editorial Acriba, S.A. pp. 99-144.
- 28) Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467-483. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031

- 29) Buriti, F., Cardarelli, H., Filisetti, T., & Saad, S. (2007). Symbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophiles*. *Food Chemistry*, 104, 1605-1610. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.03.001
- 30) Burns, A., & Rowland, I. (2000). Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics. *Current issues in Intestinal Microbiology*, 1, 13-24.
- 31) Cani, P., Lecourt, E., Dewulf, E., Sohet, F., Pachikian, B., Naslain, D., De Backer, F., Neyrinck, A., & Delzenne, N. (2009). Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90, 1236-1243. Doi: 10.3945/ajcn.2009.28095
- 32) Cardarelli, H., Buriti, F., Castro, I., & Saad, F. (2008). Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic petite-suisse cheese. *LWT- Food Science and Technology*, 41, 1037-1046. Doi: 10.1016/j.lwt.2007.07.001
- 33) Castelli, F., Sarpietro, M., Micieli, D., Ottimo, S., Pitarresi, G., & Tripodo, G. (2008). Differential scanning calorimetry study on drug release from an inulin based hydrogel and its interaction with a biomembrane model: pH and loading effect. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35, 76-85. Doi: 10.1016/j.ejps.2008.06.005
- 34) Chandan, R., & Shahani, K. (1993). Yogurt. En: Hui, Y. ed. *Dairy Science and Technology Handbook vol 2*. New York: VCH Publishers Inc., capítulo 1. Pp. 1-55.
- 35) Cedeño, M. (1995). Tequila production. *Critical Reviews in Biotechnology*, 15 (1), 1-11.
- 36) Coman, M., Cecchini, C., Verdenelli, M., Silvi, S., Orpianesi, C., & Cresci, A. (2012). Functional Foods as carriers for SYN BIO, a probiotic bacteria combination. *International Journal of Food Microbiology*, 157(3), 346-352. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.003
- 37) Conceição, A., Goulart, B., De Macêdo, N., Pessoa, A., Converti, A., & da Silva, J. (2014). Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*, 101, 368-378. Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.09.081
- 38) Crispín-Isidro, G., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H., Alvarez Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. (2014). Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological,

microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT- Food Science and Technology*, 30, 1-7. Doi: 10.1016/j.lwt.2014.06.042

39) Crittenden, R., & Playne, M. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology*, 7 (11), 353-361.

40) Dai, D., Nanthkumar, N., Newburg, D., & Walker, W. (2000). Role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense. *Journal of Pediatric and Gastroenterology Nutrition*, 30, 23-33. Doi: 10.1097/00005176-200000002-00005

41) Dave, P. (2012). Rheological properties of low-fat cheese spread made with inulin as a fat replacer. USA: University of Wisconsin-Stout.

42) Dave, R., & Shah, N. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31-41.

43) Davidson, R., Duncan, C., Hackney, C., Eigel, W., & Boling, J. (2000). Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *Journal of Dairy Science*, 83, 666-673. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74927-7

44) De Paula, J., Carmuega, E., Weill, R. (2008). Effect of the ingestion of a symbiotic yogurt on the bowel habits of women with functional constipation. *Acta Gastroenterológica latinoamericana*, 38, 16-25.

45) Desai, A., Powell, I., Shah, N. (2004) Survival and activity of probiotic lactobacilli in skim milk containing prebiotics. *Journal of Food Science*, 69, FM257-FMS260. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb13371.x

46) De Souza, R., Perego, P., Nogueira, M., & Converti, A. (2011a). Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. *Journal of Food Engineering*, 107, 36-40. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.06.005

47) De Souza, R., Perego, P., Nogueira, M., & Converti, A. (2011b). Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. *LWT- Food Science and Technology*, 44, 520-523. Doi: 10.1016/j.lwt.2010.08.024

48) Devereux, H., Jones, G., McCormack, L., & Hunter, W. (2003). Consumer acceptability of low fat foods containing inulin and oligofructose. *Journal of Food Science*, 68, 1850-1854. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb12341.

- 49) Dewulf, E., Cani, P., Claus, P., Fuentes, S., Puylaert, P., Neyrinck, A., Bindels, L., de Vos, W., Gibson, G., Thissen, J., & Delzenne, N. (2012). Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut*, 62, 1112-1121. Doi: 10.1136/gutjnl-2012-303304
- 50) Donkor, O., Nilmini, S., Stolic, P., Vasiljevic, N., & Shah, N. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 125 (6), 1401-1412. 10.1016/j.idairyj.2006.08.006
- 51) El-Nagar, G., Clowes, G., Tudorica, C., Kuri, V., & Brennan, C. (2002). Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 89-93. Doi: 10.1046/j.1471-0307.2002.00042.x
- 52) Fasura, C., Varon, L., Azevedo, H., Serva, C., Maia, R., Conte-Júnio, C., & Queiroz, M., De Oliveira, A. (2015). Sensory evaluation of ovine milk yogurt with inulin addition. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 1-10. Doi: 10.1111/1471-0307.12189
- 53) Fox, P., McSweeney, P., Guinee, T., Cogan, T., & McSweeney, P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc. pp. 10-18, 429-451.
- 54) Franck, A. (2006). Inulin. En: Stephen, A., Phillips, G. eds. *Food Polysaccharides and their Applications*. Nueva York: Taylor and Francis Group, capítulo 10. Pp. 335-351.
- 55) Franck, A., & De Leenheer, L. (2005). Inulin. En: Steinbüchel, A., Rhee, S. eds. *Food Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry*. Alemania: Wiley-VCH, capítulo 8. Pp. 281-321.
- 56) Ghoddusi, H., Grandison, M., Grandison, A., & Tuohy, K. (2007). In vitro study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. *Anaerobe*, 13, 193-199. Doi: 10.1016/j.anaerobe.2007.06.002
- 57) Gibson, G., Beatty, E., Wang, X., & Cummings, J. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, 975-982.
- 58) Gibson, G., & Fuller, R. (1998). The Role of Probiotics and Prebiotics in the Functional Food Concept. En: Sadler, M., Saltmarsh, M. eds. *Functional Foods. The Consumer, the Products and the Evidence*. Londres: The Royal Society of Chemistry, pp. 3-14.

- 59) Gibson, G., Scott, K., Rastall, R., Tuohy, K., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., Gareau, M., Murphy, E., Saulnier, D., Loh, G., Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Lenoir-Wijnkook, I., Walker, C., & Buddington, R., (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *IFIS Functional Foods Bulletin*, 7, 1-19. Doi: 10.1616/1476-2137.15880
- 60) Giri, A., Kanawjia, S. & Khetra, Y. (2014). Textural and Melting Properties of Processed Cheese Spread as Affected by Incorporation of Different Inulin Levels. *Food Bioprocess Technology*, 7, 1533-1540. Doi: 10.1007/s11947-013-1235-0
- 61) Goff, H. (1997). Instability and partial coalescence in whippable dairy emulsions. *Journal of Dairy Science*, 80, 2620-2630. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76219-2
- 62) Goff, H. (2008). 65 Years of ice cream science. *International Dairy Journal*, 18, 754-758. Doi: 10.1016/j.dairyj.2008.03.006
- 63) Gomes, A., Viera, M. & Malcata, F. (1998). Survival of probiotic microbial strains in cheese matrix during ripening: Simulation of rate of salt diffusion and microorganism survival. *Journal of Food Engineering*, 36, 281-301.
- 64) Guggisberg, D., Cuthbert-steven, J., Piccinali, P., Bütikoffer, U., & Eberhard, P. (2009). Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yogurt as influenced by inulin addition. *International Dairy Journal*, 19, 107-115. Doi: 10.1016/j.idairyj.2008.07.009
- 65) Guo, M. (2009). *Functional Foods: Principles and Technology*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1-5.
- 66) Guven, M., & Karaca, O. (2002). The effects of varying sugar content and fruit concentration on the physical properties of vanilla and fruit ice cream type frozen yogurts. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 27-31. Doi: 10.1046/j.1471-0307.2002.00034.x
- 67) Guven, M., Karaca, O., & Hayaloglu, A. (2005). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 58 (3), 180-184. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2005.00210.x
- 68) Haque, Z., & Ji, T. (2003). Effect on non-fat ice cream and yogurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 463-473.

- 69) Hann, K., & Lentz, L. (2006). Synergic Combination of Compositions Containing Aloe Vera Isolates and Their Therapeutic Application. Kent Hann, assignee. US Patent No. 20060105063 A1. May. 2006.
- 70) Harmen, H. (2002). The effect of prebiotic inulin and the probiotic *Bifidobacterium longum* on the fecal microflora of healthy volunteers measured by FISH and DGGE. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14, 212-220. Doi: 10.1080/08910600310002091
- 71) Hashemi, M., Gheisari, H. & Shekarforoush, S. (2014). Preparation and evaluation of low-calorie functional ice cream containing inulin, lactulose and *Bifidobacterium lactis*. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 1-7. Doi: 10.1111/1471-0307.12173
- 72) Hébette, C., Delcour, J., Koch, M., Booten, K., Kleppinger, R., & Mischenkod, N. (1998). Complex melting of semi-crystalline chicory root inulin. *Carbohydrate Research*, 310, 65-75.
- 73) Herceg, Z., Rezek, A., Lelas, V., Kresic, G., Franetovic, M. (2007). Effect of carbohydrates on the emulsifying, foaming and freezing properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 79, 279-286. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.01.055
- 74) Holcomb, J., & Frank, J. (1991). Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in soft-serve frozen yogurt. *Cultured Dairy Products Journal*, 26, 4-5.
- 75) Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M., Yarmand, M., & Razavi, S. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of symbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111, 50-55.
- 76) Ibrahim, G., Mehanna, S., & Gad El-Rab, D. (2004). Preparation and properties of set fermented milk containing inulin and different probiotics. En *9th Egyptian Conference of Dairy Science & Technology*, 1117-132.
- 77) Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2010). *Mujeres y hombres en México 2010*. Obtenido de:
http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/2010/myh_2010.pdf
- 78) Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuchi, H., Kobayashi, Y., Yajima, T., & Kan, T. (1990). Effects of administration of galactooligosaccharide on the human fecal

microflora, stool weight, and abdominal sensation. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 3, 285-292.

79) Jones, P., & Jew, S. (2007). Functional Food development: concept to reality. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 387-390. Doi: 10.1016/j.tifs.2007.03.008

80) Juan, B., Zamora, A., Quintana, F., Guamis, B. & Trujillo, A. (2013). Effect of inulin addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66 (4), 478-483. Doi: 10.1111/1471-0307.12057

81) Junior, T., Giani, G., Rodrigues, D., da Silva, M., Guikherme, I. & Scaramal, G. (2015). Microbial, physical, chemical and sensory properties of Minas Frescal Cheese with Inulin and gum Acacia. *Acta Scientiarum Technology*, 37 (1), 155-160. Doi: 10.4025/actascietechol.v37i1.19744

82) Kailasapathy, K., & Rybka, S. (1997). *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.: their therapeutic potential and survival in yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 52, 28-35.

83) Kailasapathy, K., & Sultana, K. (2003). Survival of β -D-galactosidase activity of encapsulated and free *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice cream. *Australian Journal of Dairy Technology*, 58, 223–227

84) Karimi, R., Azizi, M., Ghasemlou, M. & Vaziri, M. (2015). Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 199, 85-100. Doi: 10.1016/j.carbpol.2014.11.029

85) Kaur, N., & Gupta, A. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Bioscience*, 27, 703-714. Doi: 10.1007/BF02708379

86) Keller, C. (2006). Trends in beverages and “Measurable Health”. In proceedings of the third functional food net meeting.

87) Kleessen, B., Sykra, B., Zunft, H., & Blaut, M. (1997). Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, 1397-1402.

- 88) Kolida, S., Meyer, D., & Gibson, G. (2007). A double-blind placebo-controlled study to establish the bifidogenic dose of inulin in healthy humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 1189-1195. Doi: 10.1017/S0007114510001571
- 89) Kondepudi, K., Ambalam, P., Nilsson, I., Wadström, T., & Ljungh, A. (2012). Prebiotic non-digestible oligosaccharides preference of probiotic bifidobacterias and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*. *Anaerobe*, 18, 489-497. Doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.08.005
- 90) Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., & Pehu, E. (2006). Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. *Agriculture and Rural Development discussion paper*, 30. Washington DC: World Bank. Obtenido de: <http://documents.worldbank.org/curated/en/2006/06/7018097/health-enhancing-foods-opportunities-strengthening-developing-countries>
- 91) Kruse, H., Kleessen, B., & Blaut, M. (1999). Effects of inulin on fecal bifidobacterias in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 82, 375,382.
- 92) Leovaridis, C. (2010). Comparative aspects regarding consumption and consumers in European countries. *Management and Marketing*, 8, 247-257.
- 93) Lluch, A., Hanet-Geisen, N., Salah, S., Salas-Salvado, J., L'Heureux-Bouron, D., Halford, J. (2010). Short-term appetite-reducing effects of a low-fat dairy product enriched with protein and fibre. *Food Quality and Preference*, 21, 402-409. Doi: 10.1016/j.foodqual.2009.10.001
- 94) Lomax, A., & Calder, P. (2009). Prebiotics, immune function, infection and inflammation: A review of evidence. *British Journal of Nutrition*, 101, 633-658. Doi: 10.1017/S0007114508055608
- 95) López, M., Mancilla-Margalli, N., & Mendoza-Díaz, G. (2003). Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* var. Azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (27), 7835-7840.
- 96) Lourens-Hattingh, A., & Viljoen, B. (2001). Yogurt as a probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11, 1-17. Doi: 10.1016/S0958-6946(01)00036-X
- 97) Lum, A., & Albrecht, J. (2008). Sensory evaluation of ice cream made with prebiotic ingredients. *Review of Undergraduate Research in Agricultural and Life Sciences*, 3, 1-9.

- 98) Madureira, A., Soares, J., Pintado, M., Gomes, A., Freitas, A., & Malcata, F. (2008). Sweet whey cheese matrices inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26. *Dairy Science Technology*, 88, 649-665.
- 99) Magarinos, H., Selaive, S., Costa, M., Flores, M., & Pizarro, O. (2007). Viability of probiotic microorganisms (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. Lactis Bb-12) in ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 60, 128-134. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2007.00307.x
- 100) Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P., & Brulé, G. (2004). Productos fermentados y postres lácteos. *Productos lácteos industriales*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. pp. 23-36.
- 101) Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P., & Brulé, G. (2004). Helados y postres helados. *Productos lácteos industriales*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. pp. 151-165.
- 102) Marshall, R. (2001). Frozen dairy dessert. En Marth, E., & Steele, J. Eds. *Applied dairy microbiology*. New York: Decker Press, 93-127.
- 103) Marteau, P., Cuillerier, E., Meance, S., Gerhardt, M., Myara, A., Bouvier, M., Bouley, C., Tonde, F., Bommelaer, G., & Grimaud, J. (2002). *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 16, 587-593. Doi: 10.1046/j.1365-2036.2002.01188.x
- 104) Mattes, R. (1998). Position of the American Dietetic Association: Fat replacers. *Journal of American Diet Association*, 98, 463-468.
- 105) McBain, A., & Macfarlane, G. (2001). Modulation of genotoxic enzyme activities by non-digestible oligosaccharide metabolism in-vitro human gut bacterial system. *Journal of Medical Microbiology*, 50, 833-842.
- 106) Mcdevitt-Pugh, M., & Meyer, D. (2005). Low glycemic index products with inulin to support weight management. *Wellness Foods Europe*, 34, 20-24.
- 107) Meance, S., Cayuela, C., Turchet, P., Raimondi, A., Lucas, C., Antoine, J. (2001). A fermented milk with a bifidobacterium probiotic strain DN-173 010 shortened Oro-Fecal Gut transit time in elderly. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 13, 217-222. Doi: 10.1080/089106001753341291

- 108) Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., & Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25, 1881-1890. Doi: 10.1016/j.foohyd.2011.04.012
- 109) Meyer, D., & Blaauwhoed, J. (2009). Inulin. En Phillips, G., & Williams, P. Eds., *Handbook of Hydrocolloids*. Cambridge: Woodhead Publishing and CRC Press, 829-848. Doi: 0.1533/9781845695873.829
- 110) Mistry, V. (2001). Low fat cheese technology. *International Dairy Journal*, 11, 413-422. Doi: 10.1016/S0958-6946(01)00077-2
- 111) Moeenfarid, M., & Mazaheri, T. (2008). Effect of some stabilizers on the physicochemical and sensory properties of ice cream type frozen yogurt. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 4, 584-589.
- 112) Mohammadi, R., Mortazavian, A., Khosrokhavar, R., & da Cruz, A. (2011). Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of Microbiology*, 61, 411-424. Doi: 10.1007/s13213-010-0188-z
- 113) Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt- Especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 16 de noviembre de 2010.
- 114) Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de septiembre de 2010.
- 115) O'Connor, T., & O'Brien, N. (2011). Butter and other milk fat products. Fat replacers. En Fuguay, J., Fox, P., & McSweeney, P. eds. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Oxford: Elsevier.
- 116) Organización mundial de la Salud (2015). *Obesidad y sobrepeso*. Obtenido de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
- 117) Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (2014). *Estadísticas de la OCDE sobre la salud 2014. México en comparación*. Obtenido de: <http://www.oecd.org/els/health-systems/Briefing-Note-MEXICO-2014-in-Spanish.pdf>

- 118) Ortega-González, M., Molina, C., López, R., & Pacheco, D. (2014). Fructooligosaccharides reduce *pseudomonas aeruginosa* PAO1 pathogenicity through distinct mechanisms. *Public Library of Science*, 9(1). Doi: 10.1371/journal.pone.0085772
- 119) Parnell, J., & Reimer, R. (2009). Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 1751-1759. Doi: 10.3945/ajcn.2009.27465
- 120) Paseephol, T., Small., & Sherkat, F. (2008). Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. *Journal of Texture Studies*, 39, 617-634. Doi: 10.1111/j.1745-4603.2008.00161.x
- 121) Peshev, D., & Van den Ende, W. (2014). Fructans: Prebiotics and immunomodulators. *Journal of Functional Foods*, 8, 348-357. Doi: 10.1016/j.jff.2014.04.005
- 122) Rastall, R. (2010). Functional Oligosaccharides: Application and Manufacture. *The Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 305-339. Doi: 10.1146/annurev.food.080708.100746
- 123) Rezaei, R., Khomeiri, M., Aalami, M., & Kashaninejad, M. (2014). Effect of inulin on the physicochemical properties, flow behavior and probiotic survival of frozen yogurt. *Journal of Food and Science Technology*, 51 (10), 2809-2814. Doi: 10.1007/s13197-012-0751-7
- 124) Rivera-Dommarco, J., López-Olmedo, N., Aburto-Soto, T., Pedraza-Zamora, L., & Sánchez-Pimienta, T. (2014). Consumo de productos lácteos en población mexicana. *Resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012*. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- 125) Roberfroid, M. (2005). Introducing Inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 129 (7), S1436-S1437. Doi: 10.1079/BJN20041350
- 126) Rodrigues, D., Rocha-Santos, T., Gomes, A., Goodfellow, B. & Freitas, A. (2012). Lypolysis in probiotic and synbiotic cheese: The influence of probiotic bacteria, prebiotic compounds and ripening time on free fatty acid profiles. *Food Chemistry*, 131, 1414-1421. Doi: 10.1016/j.foodchem.2011.10.010

- 127) Rodrigues, D., Rocha-Santos, T., Pereira, C., Gomes, A., Malcata, X. & Freitas, A. (2011). The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. *LWT- Food Science and Technology*, 44, 100-108. Doi: 10.1016/j.lwt.2010.05.021
- 128) Rowland, I., Rumney, C., Coutts, J., & Lievense, L. (1998). Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 19, 281-285. Doi: 10.1093/carcin/19.2.28
- 129) Ruiz, J., Ramirez, A. (2009). Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 26, 223-242.
- 130) Rumessen, J., Bode, S., Hamberg, O., & Gudman-Hoyer, E. (1990). Fructans of Jerusalem artichokes: Intestinal transport, absorption, fermentation and influence. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52, 675-781.
- 131) Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., & Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT- Food Science and Technology*, 50, 1-16. Doi: 10.1016/j.lwt.2012.05.014
- 132) Saarela, M., Lahteenmaki, L., Crittenden, R., Salminen, S., & Mattila-Sandholm, T. (2002). Gut bacteria and health foods- The European perspective. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 99-117. Doi: 10.1016/S0168-1605(02)00235-0
- 133) Sandrou, D., & Arvantoyannis, I. (2000). Low fat/calorie food: Current state and perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 427-447. Doi: 10.1080/10408690091189211
- 134) Salvatore, E., Pes, M., Mazzarello, V. & Pirisi, A. (2014). Replacement of fat with long-chain inulin in a fresh cheese made from caprine milk. *International Dairy Journal*, 34, 1-5. Doi: 10.1016/j.idairyj.2013.07.007
- 135) Sauer, J., Richter, K., & Pool-Zobel, B. (2007). Physiological concentrations of butyrate favorably modulate genes of oxidative and metabolic stress in primary human colon cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18, 736-745. Doi: 10.1016/j.jnutbio.2006.12.012
- 136) Saulnier, D., Spinler, J., Gibson, G., & Versalovic, J. (2009). Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. *Current Opinion in Biotechnology Journal*, 20, 135-141.

- 137) Scholz-Ahrens, K., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Asil, Y., Gluer, C., & Schrezenmeir, J. (2007). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition*, 137, 838S–846S.
- 138) Scott, R. (2^a ed) (2002). *Fabricación de queso*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. pp. 21-39.
- 139) Shah, N., & Ravula, R. (2000). Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *Australian Journal of Dairy Technology*, 55, 139-144.
- 140) Shakerian, M., Razavi, S., Khodaiyan, F., Ziai, S., Yarmand, M., & Moayedi, A. (2014). Effect of different levels of fat and inulin on the microbial growth and metabolites in probiotic yogurt containing nonviable bacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 261-268. Doi: 10.1111/ijfs.12315
- 141) Shin, H., Lee, J., Pestka, J., & Ustunol, Z. (2000). Viability of bifidobacteria in commercial dairy products during refrigerated storage. *Journal of Food Protection*, 63, 327-331.
- 142) Sirò, I., Kàpolna, E., Kàpolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance- A review. *Appetite*, 51, 456-467. Doi: 10.1016/j.appet.2008.05.060
- 143) Sofjan, R., & Hartel, R. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal*, 14, 255-262. Doi: 10.1016/j.idairyj.2003.08.005
- 144) Soukoulis, C., Fisk, I., & Bohn, T. (2014). Ice Cream as a vehicle for incorporating health-promoting ingredients: Conceptualization and overview of quality and storage stability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 627-655. Doi: 10.1111/1541-4337.12083
- 145) Soukoulis, C., Lyroni, E., & Tzia, C. (2010). Sensory profiling and hedonic judgement of probiotic ice cream as a function of hydrocolloids, yogurt and milk fat content. *LWT- Food Science and Technology*, 43, 1351-1358. Doi: 10.1016/j.lwt.2010.05.006
- 146) Soukoulis, C., & Tzia, C. (2008). Impact of the acidification process, hydrocolloids and protein fortifiers on the physical and sensory properties of frozen yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 61, 170-177. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2008.00385.x

- 147) Srisuvor, N., Chinprahast, N., Prakitchaiwattana, C., & Subhimaros, S. (2012). Effect of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yogurt with probiotic-cultured banana purée. *LWT- Food Science and Technology*, 51, 30-36. Doi: 10.1016/j.lwt.2012.10.018
- 148) Su, P., Henricksson, A., & Mitchell, H. (2007). Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures in-vitro. *Anaerobe*, 13, 134-139. Doi: 0.1016/j.anaerobe.2007.04.007
- 149) Surai, P., & Sparks, N. (2001). Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends in Food Science & Technology*, 12, 7-16. Doi: 10.1016/S0924-2244(01)00048-6
- 150) Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2004). The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 5 (1), 1-8.
- 151) Tarini, J., & Wolover, T. (2010). The fermentable fiber inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 35, 9-16. Doi: 10.1016/S1499-2671(09)33095-6
- 152) Tiwari, A., Sharma, H., Kumar, N., & Kaur, M. (2014). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of low-fat ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 1-7. Doi: 10.1111/1471-0307.12176
- 153) Tulk, H., Blonski, D., Murch, L., Duncan, A., & Wright, A. (2013). Daily consumption of a symbiotic yogurt decreases energy intake but does not improve gastrointestinal transit time: a double-blind, randomized, crossover study in healthy adults. *Nutrition Journal*, 12, 1-9.
- 154) Tunland, B., & Meyer, D. (2002). Non-digestible oligosaccharides (dietary fibre): Their physiology and their role in human health and food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 73-92. Doi: 10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x
- 155) Ulloa, J., Espinosa, H., Cruz, G., Rosas, P., Ulloa, B., & Ramírez, J. (2010). Los fructanos y su papel en la promoción de la salud. *Revista Fuente*, 5, 57-62.
- 156) Van den Heuvel, E., Muys, T., Van Dokkum, W., & Schaafsma, G. (1999). Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *American Journal of Clinical Nutrition*, 60, 544-548.

157) Vinolo, M., Rodrigues, H., Nachbar, R., & Curi, R. (2011). Regulation of inflammation by short chain fatty acids. *Nutrients*, 3, 858-876. Doi: 10.3390/nu3100858

158) Vogt, L., Rmasamy, U., Meyer, D., Pullens, G., Venema, K., Faasm M., Schols, H., & de Vos, P. (2013). Immune modulation by different types of beta 2→1 fructans is toll-like receptor dependent. *Public Library of Science*, 8(7), e68367.

159) Yang, Y., He, M; Hu, G., Wei, J., Pages, P., Yang, X., & Bourdu-Naturel, S. (2008). Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on Chinese constipated women. *World Journal of Gastroenterology*, 14, 6237-6243.

160) Zimeri, J., & Kokini, J. (2003). Rheological properties of inulin-waxy maize starch systems in high moisture environments. *Carbohydrate Polymers*, 52, 225-236.