

Máster en Biotecnología Avanzada 2020-2021

Memoria del trabajo de fin de Máster

Desarrollo de un sustituto de los derivados de la leche a partir de la fermentación de frutos secos.

Desenvolvemento dun substituto dos derivados do leite a partir da fermentación de froitos secos.

Development of a substitute for milk derivatives from the fermentation of nuts

Karina Bouza Fraga

Febrero 2021

Tutores académicos:

Manuel Becerra Fernández

Selva Otero Pato

Universidade da Coruña
Facultad de Ciencias
Máster en Biotecnología Avanzada

Empresa: *Bioselección S.L.*

Desarrollo de un sustituto de los derivados de la leche a partir de la fermentación de frutos secos.

Desenvolvemento dun substituto dos derivados do leite a partir da fermentación de froitos secos.

Development of a substitute for milk derivatives from the fermentation of nuts

Selva Otero Pato y el Dr. Manuel Becerra Fernández, en calidad de tutores, autorizan la presentación del Trabajo de Fin de Máster titulado: “Desarrollo de un sustituto de los derivados de la leche a partir de la fermentación de frutos secos.” realizado por Dña. Karina Bouza Fraga para su defensa ante el tribunal evaluador.

Fdo.:

D.^a Karina Bouza Fraga

DNI: 51298861Y



A Coruña, 5 de febrero de 2021

Vº Bº Tutor Externo:

Fdo.:

D.^a Selva Otero Pato



BIOSELECCION, S.L.
B-15676943
Pg. POCOMACO, C-1 nave 5-A
15190 - A CORUÑA
TFO: 981 24 24 35

Vº Bº Tutor Académico:

Fdo.:

Dr. Manuel Becerra Fernández

**BECERRA
FERNANDEZ
MANUEL -
32820909R**

Firmado digitalmente
por BECERRA
FERNANDEZ MANUEL -
32820909R
Fecha: 2021.02.05
18:15:20 +01'00'

Agradecimientos

Quisiera agradecer a mi tutor académico, el Dr. Manuel Becerra, por su orientación desde el momento de la inscripción en el máster, hasta el final de esta etapa.

A Bioselección S.L. empresa que me abrió las puertas para poder llevar a cabo la última etapa del máster, en especial a mi tutora, Selva Otero, quien siempre estuvo atenta ante cualquier duda, ayudándome y guiándome en todo el proceso de realización del TFM, al igual que los demás miembros de la empresa, que me abrieron la puerta para poder aprender y compartir conocimientos en la realización de este proyecto, mostrándome un mundo nuevo dentro de la industria de la alimentación y el sin fin de innovaciones que se podrían llevar a cabo con visión de futuro.

También agradecer a mis compañeros del máster, en especial a Gabriela, Sayira, Milbian, Abigail y Hugo, con quienes formé un gran grupo de apoyo durante todo el curso, tanto para estudiar como para aquellas interminables discusiones sobre tópicos totalmente nuevos para nosotros, ayudándonos en todo momento para superar con éxito todos los retos que se nos presentaban.

A toda mi familia, en especial a mi mamá y a David, por darme ánimos durante esta etapa y no dejarme desfallecer ante los retos que significaba la crisis sanitaria por la cual estamos pasando a nivel mundial, teniendo siempre positivismo para lograr las metas propuestas. También agradecer a mi papá, que le hubiese encantado vivir esta experiencia a mi lado, pero sé que, desde el cielo, está feliz de verme cumplir uno de mis sueños.

Por último, agradecer a Dios por permitirme cumplir la meta de realizar el máster, luego de años de papeleo para obtener la equivalencia en España de mi título y de ahorro para poder realizarlo.

Contenido

Agradecimientos	2
Resumen	6
Palabras clave	6
Resumo	6
Palabras clave	6
Summary	7
Key words.....	7
Abreviaturas:	8
Introducción.....	9
Nuevas tendencias alimentarias	9
Alimentos funcionales	9
Alimentos ecológicos	10
Frutos secos	11
Remojo de frutos secos	11
Fermentación	12
Fermentación ácido-láctica	12
Fuentes de bacterias ácido-lácticas (LAB) para la fermentación de frutos secos	12
Cocción de frutos secos	13
Combinación de tecnologías emergentes y la fermentación para eliminación de micotoxinas	14
<i>Ozono</i>	15
<i>Plasma</i>	15
<i>Calentamiento óhmico</i>	16
<i>Campo eléctrico pulsado</i>	17
<i>Ultrasonido</i>	18
Mejora en el proceso fermentativo artesanal	19
<i>Acidificación</i>	19
<i>Sal</i>	20
Fuentes de grasas de origen vegetal	21
Propiedades organolépticas	21
Objetivo	21
Materiales	22
Métodos	22
<i>Remojo de frutos secos</i>	22
<i>Cocción de los frutos secos</i>	23
<i>Proceso fermentativo</i>	23
<i>Proceso a seguir luego de la fermentación</i>	23
<i>Encuesta sensorial</i>	24
<i>Análisis estadístico</i>	24

Resultados preliminares	25
Grupo control	25
Grupo de prueba	26
Encuesta sensorial	27
<i>Muestra del fermento de Nueces</i>	27
<i>Muestra del fermento de Anacardos</i>	28
<i>Muestra del fermento de Almendras</i>	28
<i>Comparación de los diferentes parámetros</i>	29
<i>Preferencias</i>	31
Discusión	32
Conclusiones	33
Referencias	35

Índice de tablas

Tabla 1: Resultados de medias con su respectiva desviación estándar de los ensayos control	25
Tabla 2: Resultados de medias con su respectiva desviación estándar de los ensayos del grupo de prueba	26
Tabla 3: Resultados porcentuales de la muestra del fermento de nueces de la encuesta sensorial con escala hedónica	27
Tabla 4: Resultados porcentuales de la muestra del fermento de anacardos de la encuesta sensorial con escala hedónica	28
Tabla 5: Resultados porcentuales de la muestra del fermento de almendras de la encuesta sensorial con escala hedónica	28

Índice de Figuras

Figura 1: Relación entre plasma frío y fermentación	16
Figura 2: Efectos del calentamiento óhmico y el campo eléctrico moderado sobre el proceso de fermentación	17
Figura 3: Impacto del campo eléctrico pulsado en la fermentación	18
Figura 4: Efecto de cavitación y su aplicación en la descontaminación de alimentos	19
Figura 5: Mezclas obtenidas para la fermentación de los diferentes frutos secos	26
Figura 6: Mezcla fermentada en sus respectivos moldes con gasas	26
Figura 7: Producto untable obtenido de la fermentación de frutos secos	27
Figura 8: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de olor	29

Figura 9: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de color.....	29
Figura 10: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de textura.....	30
Figura 11: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de sabor.....	30
Figura 12: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de apariencia	31
Figura 13: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial sobre las preferencias.....	31

Resumen

En la actualidad ha aumentado el consumo de alimentos veganos y vegetarianos en el afán de un estilo de vida más saludable, evitar la crueldad animal y las ventajas medio ambientales que conlleva, debido a ello se buscan diferentes alternativas, entre los que se encuentran sustitutos de los productos derivados de la leche, con la utilización de productos vegetales, como los frutos secos, aumentando sus propiedades nutritivas y beneficios para la salud, generando así un alimento funcional. Estos productos han sido poco estudiados por la ciencia y en la actualidad siguen siendo preparados de una forma muy tradicional y artesanal, por lo cual el objetivo principal de este trabajo es hacer una revisión de diferentes estudios para mejorar el proceso fermentativo, aumentando así la vida útil del producto y controlando, dentro de la elaboración artesanal, aquellos riesgos para la seguridad alimentaria; para ello se proponen algunas modificaciones en el procesamiento tradicional.

Palabras clave

Fermentación, Frutos secos, veganismo, bacterias ácido-lácticas, fermentación de frutos secos, seguridad alimentaria, alimentos funcionales.

Resumo

Na actualidade, o consumo de alimentos veganos e vexetarianos aumentou no desexo dun estilo de vida máis saudable, evitando o maltrato animal e as vantaxes ambientais que isto supón, debido a isto, estanse a buscar diferentes alternativas, entre as que se atopan os substitutos de produtos derivados do leite, co uso de produtos vexetais, como os froitos secos, aumentando as súas propiedades nutricionais e beneficios para a saúde, xerando así un alimento funcional. Estes produtos foron pouco estudados pola ciencia e hoxe en día aínda se preparan dun xeito moi tradicional e artesanal, para o que o obxectivo principal deste traballo é revisar diferentes estudos para mellorar o proceso de fermentación, aumentando así o vida útil do produto e controlando, dentro da elaboración artesanal, eses riscos para a seguridade alimentaria; para isto, propóñense algunhas modificacións no procesamento tradicional.

Palabras clave

Fermentación, froitos secos, veganismo, bacterias ácidas lácticas, fermentación de froitos secos, seguridade alimentaria, alimentos funcionales.

Summary

Currently, the consumption of vegan and vegetarian foods has increased in the desire for a healthier lifestyle, avoiding animal cruelty and the environmental advantages that it entails, due to this, different alternatives are being sought, among which are substitutes for products derived from milk, with the use of plant products, such as nuts, increasing their nutritional properties and health benefits, generating a functional food. These products have been little studied by science and nowadays they are still prepared in a very traditional and artisanal way, for which the main objective of this job is to review different studies to improve the fermentation process, thus increasing the useful life of the product and controlling, within the artisanal elaboration, those risks for food safety; for this, some modifications in the traditional processing are proposed.

Key words

Fermentation, Nuts, veganism, lactic acid bacteria, nuts fermentation, food safety, functional food.

Abreviaturas:

- **LAB:** bacterias ácido-lácticas
- **° C:** grados centígrados
- **pH:** potencial de hidrógeno
- **p/p:** peso/peso
- **p/v:** peso/volumen
- **spp:** subespecie
- **GRAS:** generalmente reconocido como seguro
- **FDA:** Food and Drug Administration
- **gr:** gramo
- **kg:** kilogramo
- **US:** ultrasonido
- **kHz:** kilohercios
- **MHz:** megahercios
- **n:** número de muestras analizadas

Introducción

Nuevas tendencias alimentarias

Recientemente ha aumentado la tendencia de adoptar una dieta basada en el consumo de vegetales, la cual incluye cereales, legumbres, semillas, frutos secos, frutas y verduras; debido a la aversión a la crueldad animal, un estilo de vida saludable y la conciencia ambiental, ya que su producción es más sostenible (Janssen et al. 2016; Villarino et al. 2016; Sebastiani et al. 2019). Por estas razones, ha surgido una variedad de tendencias como el veganismo, que trata fundamentalmente de evitar el consumo de carne vacuna, pescado, pollo, cerdo, o productos provenientes de los animales como la leche, el queso y la miel, entre otros (Aydar et al. 2020).

Los individuos que consumen menos proteína de origen animal tienen un aumento del índice de alimentación saludable, es decir que la fuente proteica influye notablemente en la calidad nutricional de la dieta a seguir, factor clave en la predicción de riesgo de enfermedad y mortalidad (Sokolowski et al. 2020).

Unas de las desventajas de las dietas veganas es que suelen tener muchos aditivos para que sus características se asemejen mayormente a aquellas provenientes de los animales (Jeske et al. 2018), adicional a esto, las dietas veganas suelen ir acompañadas de suplementos vitamínicos, ya que se tiene una baja ingesta de proteínas y suele asociarse con deficiencias de vitaminas B₂, B₃, B₁₂, D, yodo, zinc, calcio, sodio, potasio y selenio (Bakaloudi et al. 2020).

Alimentos funcionales

Uno de los desafíos que posee la industria alimentaria, es la creación de nuevos productos que puedan satisfacer la demanda de alimentos de una población que se encuentra en constante crecimiento, teniendo como premisa la gran cantidad de personas que se encuentran en estado de desnutrición por deficiencia proteica dentro de la dieta (FAO, 2017).

Los probióticos representan uno de los mercados de alimentos funcionales más grandes. La mayoría de los productos disponibles son de tipo lácteos o derivados, como leche, helado, yogur, queso y postres, a pesar del crecimiento continuo del sector no lácteo, con productos como bebidas a base de soja, alimentos a base de frutas y otros productos a base de cereales. Entre los productos probióticos no lácteos, los elaborados con soja destacan por los

beneficios nutricionales de las proteínas vegetales, y los cambios provechosos dados por la presencia de bacterias probióticas, aumenta la comercialización y venta de estos productos, como mezclas similares a yogures con zumos de frutas y bebidas fermentadas, mostrando una tendencia al desarrollo de nuevos productos con adecuado atractivo sensorial, nutricional, y propiedades útiles para la salud. Los productos probióticos no lácteos tienen un gran potencial de crecimiento para la industria alimentaria y pueden explorarse ampliamente mediante el desarrollo de nuevos ingredientes, procesos y productos (Granato et al. 2010).

A nivel de salud del consumidor, y a nivel ambiental, es importante crear nuevos productos que se asemejen a los que se busca sustituir y que sean funcionales, además que provengan de una producción ecológica. Los frutos secos pueden proporcionar, en las dietas veganas, valiosas cantidades de vitaminas, contribuyendo a la ingesta recomendada de micronutrientes en una dieta saludable (Stuetz et al. 2017).

Alimentos ecológicos

En los últimos años los debates sobre los sistemas alimentarios se han incrementado significativamente, a medida que los agricultores, los responsables políticos y el público en general luchan con los desafíos del cambio climático, la seguridad alimentaria y la desnutrición, teniendo en cuenta los llamamientos para aumentar la producción y reducir los impactos ambientales (Hedberg et al. 2020).

El sector alimentario tiene gran importancia a nivel económico, por lo cual, el rendimiento agrícola debe aumentar continuamente, pero dicho crecimiento que se ve afectado por la contaminación que genera (Jordan, 2019).

Un alimento ecológico es un término que indica que el alimento u otro producto agrícola se ha elaborado mediante métodos aprobados que se componen de prácticas culturales, biológicas y mecánicas que fomentan el ciclo de los recursos, permiten que exista equilibrio ecológico y la conservación de la biodiversidad (USDA, 2011).

Por ende, una alimentación ecológica, permitiría obtener alimentos más sostenibles, elemento clave en la industria alimenticia del futuro (Berggren et al. 2019).

Frutos secos

Los frutos secos más consumidos son las almendras, nueces de Brasil, anacardos, avellanas, nueces de macadamia, nueces, y pistachos. Por otro lado, no necesitan ser procesados para el secado, pero pueden tostarse, lo que tiene poco impacto en la composición nutricional, excepto por la pérdida de compuestos antioxidantes que se encuentran en la cubierta externa (Schlormann et al. 2015).

Entre los beneficios que pueden aportar en la dieta se encuentran: los macronutrientes, micronutrientes, y nutrientes esenciales, siendo los ácidos grasos los predominantes, y su consumo se asocia a beneficios cardiometabólicos. Es importante resaltar que los frutos secos tienen un perfil nutricional e ingredientes bioactivos que pueden incorporarse a una dieta saludable (Alasalvar et al. 2020).

Cada variedad de frutos secos tiene su propio sabor y textura, lo que permite una amplia gama de usos culinarios, y agregarlos a la dieta mejora la ingesta de nutrientes y confiere beneficios a la salud. Contienen un alto contenido de proteína y fibra de origen vegetal, pero cada tipo de fruto seco tiene su propia combinación de vitaminas y minerales. **Las almendras** son una fuente de vitamina E, ácido fólico, calcio y magnesio, **los anacardos** contienen cobre y magnesio, **las nueces** son ricas en vitamina E, grasas poliinsaturadas, ácido alfa-linolénico, ácido graso omega-3 de origen vegetal, considerándose de gran beneficio para la salud cardiovascular (USDA, 2016).

Remojo de frutos secos

En la actualidad, se puede encontrar en la literatura no especializada, información que afirma que el remojo de los frutos secos induce una mejoría en la biodisponibilidad de los nutrientes, mejorando de esta forma la tolerancia gastrointestinal. Existen estudios sobre legumbres y granos donde se indica una reducción en los niveles de fitato, pero diferentes estudios han demostrado que no existe relación entre el remojo de los frutos secos con el aumento en la biodisponibilidad de sus nutrientes (Taylor et al. 2018; Kumari et al. 2020).

De igual forma, es una técnica que es muy utilizada para la elaboración artesanal de productos provenientes de la fermentación de frutos secos.

Fermentación

La fermentación se define como el cambio bioquímico de los productos alimenticios por acción de microorganismos o sus enzimas (FAO/WHO, 1995). Se ha utilizado desde el pasado para preservar los alimentos, pero debemos destacar que esta tecnología también cambia el sabor y la textura del fermento obtenido y de forma adicional mejora su valor nutricional y las propiedades promotoras de la salud que posee el producto a fermentar (Ross et al. 2002; Xiang et al. 2019).

El proceso de fermentación de alimentos se puede clasificar en diferentes categorías en base a ácido láctico, acético o alcohólico (Steinkraus, 2002).

Fermentación ácido-láctica

En la actualidad se encuentra mucha información en las redes sobre como producir de forma artesanal sustitutos del queso, mediante la fermentación ácido-láctica de frutos secos, obteniéndose así, un extra en la dieta libre de productos lácteos.

La fermentación ácido-láctica es la más utilizada para la preservación de los alimentos, todo debido a que los alimentos se encontrarían en un pH menor de 4.5, lo que evitaría la proliferación de patógenos y adicionalmente trae beneficios a nivel de nutrición, ya que las bacterias ácido-lácticas (LAB) pueden afectar el sabor de los alimentos fermentados de varias formas, generalmente proporcionándoles un sabor “agrio”. La fermentación de LAB también se puede utilizar para mejorar la calidad nutricional de las legumbres o la funcionalidad de sus proteínas (FAO/WHO, 1995; Bartkiene et al. 2015; Klupsaite et al. 2017).

Por lo general estos alimentos se limpian y a continuación son colocados en agua. La fermentación ocurre de forma espontánea, pero es importante resaltar que al adicionar LAB se aceleraría el proceso y permitiría que el pH llegara a las condiciones óptimas necesarias con mayor rapidez (CDC, 2017).

Fuentes de bacterias ácido-lácticas (LAB) para la fermentación de frutos secos

Por lo general, a nivel artesanal, las fermentaciones ocurren de forma espontánea, pero en el caso de los frutos secos la fermentación láctica espontánea, responsable de la formación del

sabor y fundamental para mejorar la calidad higiénica del producto no permite alcanzar un pH 4,4 por lo cual no se consideraría una opción recomendable (Tabanelli et al. 2018).

En algunos casos se utilizan fuentes de LAB como el Rejuvelac para la elaboración de estos fermentos (Chen et al. 2020) pero no es recomendable su uso, ya que no se puede garantizar la pureza total de los microorganismos presentes; lo más recomendable es utilizar bacterias con un certificado de “pureza” y principalmente LAB como el *Lactobacillus acidophilus*, uno de los más usados en la elaboración de estos productos, ya que nos brindaría esa acidificación del fermento, condición esencial para la viabilidad del producto a nivel de seguridad alimentaria (CDC, 2017).

Existen diferentes LAB como el *Lactococcus lactis* que se ha utilizado por muchos años en la fermentación de alimentos, especialmente queso, yogur, chucrut y similares, lo que lo convierte en generalmente reconocido como seguro (GRAS) por la Food and Drug Administration (FDA) (Song et al. 2017). Estas LAB añadirían un valor agregado al producto, como es el caso del *Lactococcus lactis ssp cremoris*, que ha demostrado aumentar los niveles de folato, enriqueciendo aún más el valor nutricional que se obtendría, siendo una buena opción para la producción de alimentos funcionales provenientes de la fermentación (Gangadharan et al. 2011).

Cocción de frutos secos

Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos por algunos tipos de mohos que crecen en numerosos alimentos, como cereales, frutas desecadas, frutos secos y especias. Las más frecuentes y que atentan contra la salud humana son: las aflatoxinas, la ocratoxina A, la patulina, las fumonisinas, la zearalenona y el nivalenol y desoxinivalenol. Las aflotoxinas son aquellas que afectan mayormente a los frutos secos (WHO, 2018).

La contaminación con micotoxinas de los frutos secos puede ocurrir en cualquier fase de su procesamiento, ya sea desde la cosecha, hasta la distribución, ya que esto se ve influenciado por factores intrínsecos y extrínsecos como el contenido de humedad, el pH, las condiciones de almacenamiento y las malas prácticas de cosecha (Magan 2006; Khodavaisy et al. 2012) generando así un problema de seguridad alimentaria importante, por lo cual se deben tener en cuenta diferentes variables para evitar que esto ocurra (Hokmabadi et al. 2014). El uso de técnicas de desintoxicación puede ayudar a mantener la calidad de los alimentos. Entre los métodos utilizados para la eliminación de micotoxinas disponibles se encuentra

principalmente la fermentación, debido a que permiten el enriquecimiento del valor de los nutrientes y tiene efectos inofensivos sobre la salud, generalmente se recomienda el uso de tecnologías emergentes en combinación con la fermentación (Gavahian et al. 2021).

En la actualidad, han ido apareciendo diferentes productos provenientes de la fermentación de frutos secos, proceso que, en comparación con otras fermentaciones de origen vegetal, está poco estudiado, y sigue, en la mayoría de los casos, un proceso artesanal, determinándose que la fermentación espontánea no es muy efectiva, ya que no se logra alcanzar el nivel de acidez necesaria para evitar la proliferación de microorganismos patógenos, por lo cual es recomendable la utilización de un cultivo iniciador (Tabanelli et al. 2018).

Entre las mejoras en este proceso, a nivel artesanal, se encuentra la cocción de los frutos secos utilizados, que suele ser un procesamiento común de estos alimentos, y reduciría las micotoxinas que, por algún fallo en procesos anteriores o cosecha, pudieran encontrarse en el producto. Generalmente se recomienda que la materia prima sea limpiada, molida y cocinada, ya que la fermentación no garantiza una reducción efectiva en estas toxinas como lo hace con otros patógenos, y se recomienda su combinación con otras técnicas, por ello es importante agregar un paso previo en la elaboración de fermentos de frutos secos, como la cocción, para reducir los posibles riesgos alimentarios (Nkwonta et al. 2013; CDC, 2017; Gavahian et al. 2021).

Combinación de tecnologías emergentes y la fermentación para eliminación de micotoxinas

Como se nombró con anterioridad, la presencia de micotoxinas representa un riesgo para la seguridad alimentaria en los frutos secos, y es un riesgo que puede aparecer en cualquier eslabón de la cadena de producción de este alimento, ya sea por variabilidad de temperatura, o humedad entre otros.

En la actualidad se encuentra en auge el estudio de nuevas tecnologías que permiten desintoxicar los alimentos de micotoxinas. Estas metodologías pueden ser físicas, químicas o biológicas (Patriarca et al, 2017). Encontrándose en estudio la combinación de la fermentación con estas técnicas, con la finalidad de obtener una reducción significativa en este contaminante.

Dentro de los métodos biológicos eficaces para la eliminación de micotoxinas, se encuentra la fermentación, donde las LAB han demostrado tener buenos resultados en la degradación de aflatoxinas en productos alimenticios (Shanakhat et al. 2018). Pero como se ha dicho con anterioridad, el método más eficaz es la utilización de la fermentación en combinación con otra tecnología, ya sea de tipo física como química.

Ozono

Es un aditivo generalmente utilizado por sus propiedades antimicrobianas, y se considera seguro su uso para el tratamiento, procesamiento y almacenaje de alimentos (FDA, 2020).

La aplicación del ozono para la eliminación de aflatoxinas suele estar limitada a determinados productos alimenticios, y su eficiencia aumenta con el tiempo y la concentración de ozono (Inan et al. 2007).

Si se piensa utilizar esta tecnología se debe tener en cuenta el tiempo y la concentración de ozono, especialmente por los posibles daños que puedan sufrir las propiedades nutricionales del producto, por lo cual se considera que la utilización de concentraciones bajas de ozono a un tiempo de tratamiento corto podría ser óptimo para disminuir el impacto en el valor nutricional (Chen et al. 2014).

Plasma

El plasma es considerado el cuarto estado de la materia, es un gas ionizado que se compone principalmente de electrones, fotones e iones libres (Pankaj et al. 2014), este puede generarse con diferentes combinaciones de temperatura y presión, clasificándose en plasma térmico y plasma no térmico o frío (Eliasson et al. 1991).

- Plasma frío

Este tipo de plasma se genera en condiciones de baja presión y potencia, y a diferencia del plasma térmico solo está parcialmente ionizado, tiene un mayor número de especies neutras, cuya temperatura puede estar más cerca de la temperatura ambiente. Se encuentra en investigación, por ser una tecnología novedosa, pero ha demostrado ser de gran utilidad dentro de la industria alimentaria, ya sea para la degradación de pesticidas o por su actividad antimicrobiana (Marshall et al. 2020).

El plasma frío es una tecnología que puede ser escalada y puede adaptarse a diferentes alimentos y micotoxinas, también tiene potencial para considerarse un método rentable y sostenible, ya que utiliza poca energía en comparación con otras tecnologías. También ha

demostrado ser capaz de degradar micotoxinas de las superficies de los alimentos, sin producir cambios en las propiedades organolépticas y nutricionales (Ji et al. 2018).

Un dato importante en miras al futuro, es que el plasma frío no requiere acciones térmicas, ni el uso de productos químicos, lo cual evita los posibles daños ocasionados por calor o formación de residuos químicos, todo esto permite que sea una técnica alineada con las regulaciones ecológicas y ambientales, pero teniendo en cuenta que al ser una nueva tecnología se debe seguir estudiando los posibles productos de degradación que se podrían originar, al igual que la toxicidad de estos (Marshall et al. 2020).

Esta tecnología no solo permitiría una mejora en la seguridad alimentaria por su capacidad de eliminar micotoxinas de la superficie de los alimentos, sino que estudios han demostrado que su uso optimiza la fermentación, como en el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, mejorando la actividad fermentativa del microorganismo, aumentando el rendimiento y la economía de las fermentaciones industriales (Dong et al. 2017; Recek et al. 2018). En la figura 1 se puede observar las diferentes ventajas que se obtienen al combinar el plasma frío con la fermentación.

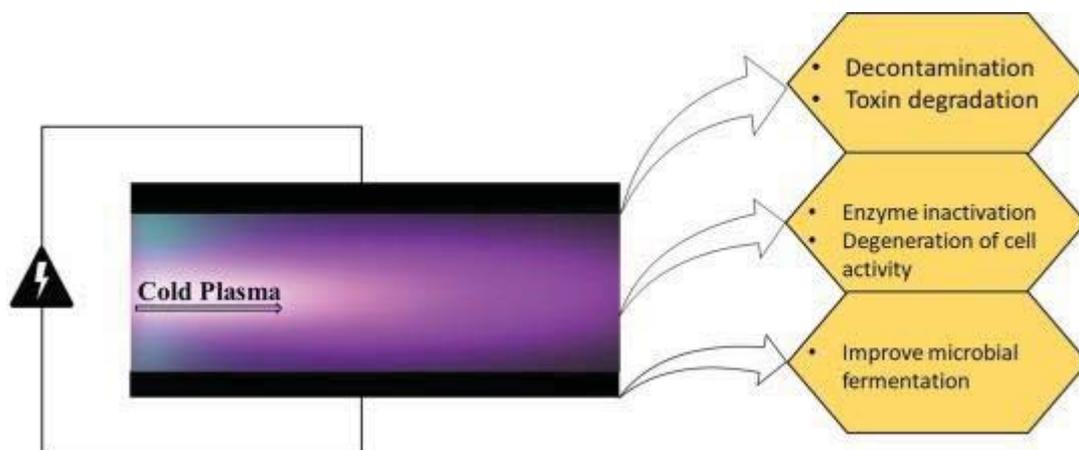


Figura 1: Relación entre plasma frío y fermentación (Gavahian et al. 2021)

Calentamiento óhmico

El calentamiento óhmico es una tecnología utilizada para calentar alimentos mediante la aplicación directa de corriente eléctrica, la cual, se convierte en energía térmica dentro de los alimentos. Tiene como ventaja que el calentamiento ocurre más rápido y uniformemente en alimentos sólidos, altamente viscosos y particulados, entre otros. Por ello, este tipo de tecnología resulta prometedora para varias aplicaciones en la industria alimentaria como escaldado, pasteurización, esterilización o cocción (Jaeger et al. 2016).

Este método consume menos tiempo que el calentamiento tradicional, teniendo como ventaja el mantenimiento de las propiedades nutricionales en el alimento tratado y una distribución estable de la temperatura, reduciendo de esta forma el deterioro del producto (Cappato et al. 2017).

Adicionalmente a lo anterior, el calentamiento óhmico permite que la temperatura de fermentación sea de forma rápida y adecuada durante el lote de fermentación, ya que la distribución de esta es constante, lo que mejora la técnica de fermentación (Gally et al. 2017). En la actualidad existen pocos estudios de si esta tecnología pudiese eliminar la contaminación causada por micotoxinas en los alimentos, pero si se ha demostrado su capacidad de reducir la actividad bacteriana, en comparación con otros procesos (Mota et al. 2018). En la figura 2 se puede observar las ventajas en el uso de esta tecnología.

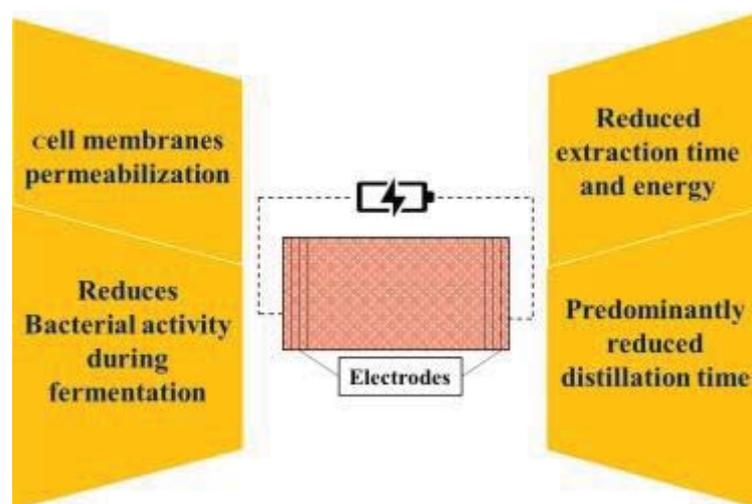


Figura 2: Efectos del calentamiento óhmico y el campo eléctrico moderado sobre el proceso de fermentación (Gavahian et al. 2021)

Campo eléctrico pulsado

Esta tecnología implica el uso de alto voltaje durante un corto periodo de tiempo, lo cual reduciría de forma significativa la pérdida de energía. Suele usarse en el tratamiento de alimentos, con el voltaje más elevado, ya que induce a la destrucción e inactivación de microorganismos. Para mejorar la fermentación se usa otro voltaje que produce electroporación en la célula, mejorando la permeabilidad celular (Shil et al. 2008; Hunt et al. 2009).

Hay estudios donde se utilizó esta tecnología con *Lactococcus lactis spp cremoris* para estudiar la fermentación, mostrando una producción de exopolisacáridos que está

estrechamente relacionada con algunas propiedades de textura en el alimento junto con beneficios para la salud (Ohba et al. 2016).

El proceso fermentativo puede verse beneficiado por el uso de esta tecnología, como se puede observar en la figura 3, ya que aumenta la permeabilidad de la membrana, la actividad enzimática, y reduce el tiempo de fermentación (Gavahian et al. 2021).

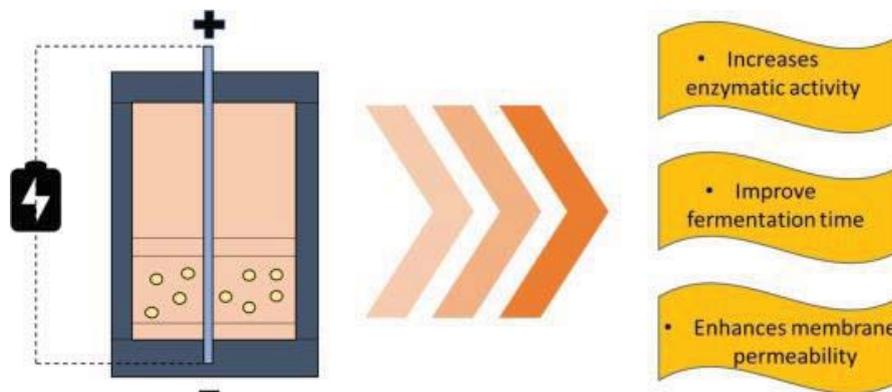


Figura 3: Impacto del campo eléctrico pulsado en la fermentación (Gavahian et al. 2021)

Ultrasonido

Esta tecnología se define como una onda de sonido que excede la frecuencia que puede oír el humano (20 kHz) (Yu et al. 2020). Existen tres tipos de ultrasonido según el rango de frecuencia: ultrasonido de potencia (20–100 kHz), ultrasonido de alta frecuencia (100 kHz - 1 MHz) y ultrasonido de diagnóstico (1–10 MHz) (Wischhusen et al. 2019).

El ultrasonido de potencia ha sido estudiado en el procesamiento de alimentos (Chen et al. 2020). Esta tecnología puede fragmentar el agua y otras moléculas en radicales libres, por ello esta técnica tiene la posibilidad de convertirse en un medio potencial para eliminar contaminantes químicos en la industria alimentaria (Yuan et al. 2021).

Al utilizarse sobre un medio líquido, se genera una presión positiva y negativa, que a su vez causa la expansión y compresión periódica de las moléculas de dicho medio. En la etapa de presión negativa, cuando ocurre la expansión, la onda de ultrasonido producirá pequeñas cavidades en el medio líquido, estas siguen absorbiendo energía hasta alcanzar un tamaño crítico, rompiendo violentamente, liberando así mucha energía, este efecto es llamado fenómeno de cavitación, como se muestra en la figura 4, esto podría utilizarse en las industrias alimentarias para la limpieza, el procesamiento y la desinfección (Khanal et al. 2014).

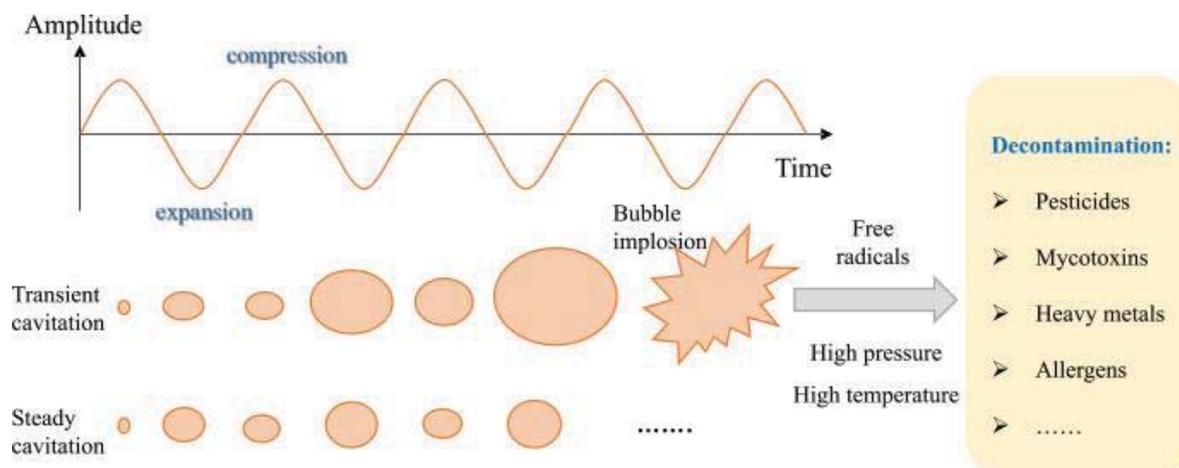


Figura 4: Efecto de cavitación y su aplicación en la descontaminación de alimentos (Yuan et al. 2021)

En la actualidad todavía se encuentra en estudio, la posibilidad de que esta tecnología pueda disminuir los alérgenos presentes en los alimentos, debido a que puede inducir cambios en los mismos, pero esto depende de la frecuencia ultrasónica utilizada, la intensidad, la duración del tratamiento y la composición del alimento (Yuan et al. 2021).

Se ha determinado que el uso del ultrasonido (US) mejora el crecimiento de los probióticos en la fermentación, dependiendo de las condiciones de procesamiento, y principalmente de la resistencia que posean los microorganismos hacia el US (Moncada et al. 2012). Esta metodología se ha usado en la leche fermentada y los productos lácteos, dando como resultado el control de ciertos microorganismos indeseables, la inactivación de algunas enzimas, la reducción del tiempo de fermentación, la mejora del crecimiento y la proliferación celular, la aceleración de la acidificación, la promoción de las actividades enzimáticas y el aumento de la tasa de transferencia del sustrato (Gholamhosseinpour et al. 2019).

Mejora en el proceso fermentativo artesanal

Acidificación

La acidificación es un paso importante para evitar que otras bacterias puedan aparecer e ir en contra de la seguridad alimentaria, ya que permitiría un aumento relativo de bacterias ácido lácticas como *Pediococcus* y *Lactobacillus*, mientras que aquellos microorganismos que se consideran patógenos como *Enterobacter*, *Escherichia*, *Shigella* y *Pantoea* se ven disminuidas (Ly et al. 2020), permitiendo así que la fermentación se dé en buenas

condiciones, promoviendo que las LAB actúen con mayor rapidez y no se deje paso a la reproducción de posibles microorganismos perjudiciales (CDC, 2017).

El ácido cítrico es un importante ácido orgánico que se aplica ampliamente en la industria alimentaria, de bebidas y en la industria farmacéutica, ya que inhibe el crecimiento de microorganismos indeseables como *Clostridium*, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* y es de bajo coste y adicionalmente ayuda a mejorar las condiciones de fermentación, obteniéndose una mejor calidad en el producto (Lv et al. 2020).

Sal

La adición de sal es un proceso usado por generaciones para el procesamiento de alimentos a nivel industrial, ya que se utiliza como conservante, y como regulador de la fermentación, entre otros; en la fermentación permite un mejor desarrollo de las LAB, ya que son más tolerantes a la sal que las patógenas, y debido a la extracción osmótica, permitiendo que las bacterias tengan más azúcares disponibles para la fermentación. La cantidad idónea suele encontrarse en un porcentaje variable entre 1% y 25% p/p (Doko et al. 2010; CDC, 2017) pero se debe tener en cuenta que cuanto mayor es la concentración de sal la proliferación de las LAB disminuiría (Xion et al. 2016). A bajas concentraciones de sal, la mejor eficiencia en la fermentación, en el caso de vegetales, se ha conseguido entre 5% y 6% (Xion et al. 2016; Liang et al. 2020), aunque en la forma artesanal de elaboración de fermentos provenientes de frutos secos se suele usar un 0.8% de sal (Tabanelli et al. 2018). Es importante destacar que dentro de las LAB presentes en las fermentaciones espontáneas se ha determinado que el género *Lactobacillus* suele ser el predominante, estas son capaces de metabolizar el azúcar en ácido láctico como subproducto primario, lo que reduce el pH y aumenta la acidez. Asimismo, se ha demostrado que puede producir etanol, ácido acético y como consecuencia inhibir el crecimiento de bacterias patógenas (Johanningsmeier et al. 2012; Johanningsmeier et al. 2013; Liang et al. 2020). También es de gran importancia, en el momento de desarrollar nuevos productos, tener en cuenta que la Organización Mundial de la Salud ha sugerido limitar la ingesta diaria de sal a menos de 5 gramos al día, debido a las consecuencias negativas que tiene sobre la salud (WHO, 2014). Las cantidades reducidas de sal trae como posible consecuencia negativa un aumento del pH, pero esto podría evitarse con el uso de ácido cítrico (El-Bakry et al. 2011).

Fuentes de grasas de origen vegetal

Otro detalle a tener en cuenta es que muchos productos de origen vegetal, que pretenden sustituir a los quesos en las dietas veganas, contienen aceite de coco u otras fuentes de grasas sólidas de origen vegetal que se derriten al aumentar la temperatura (Mattice et al. 2020). El consumo de aceite de coco podría superar el consumo recomendado de ácidos grasos saturados, y se han demostrado diferentes desventajas, como es el hecho de que no mejora los biomarcadores de enfermedad cardiovascular, en comparación con el uso del aceite de oliva (Santos et al. 2019). En este estudio se sigue la forma tradicional de elaborar fermentos de frutos secos con el uso de aceite de oliva, teniendo en cuenta, que como se mencionó con anterioridad, los frutos secos, por sí solos, son una buena fuente de grasas saludables.

Propiedades organolépticas

Se conocen como propiedades organolépticas aquellas que pueden ser captadas por los sentidos, como lo son la vista, olfato, gusto y tacto. Estas características dentro de los alimentos se evalúan por aquellos que son captados por dichos sentidos, brindando información sobre la magnitud y cualidad del estímulo provocado (Bello, 2000).

A excepción del gusto, los demás sentidos aportan información sobre la primera impresión que genera un alimento. La vista aporta información sobre color, brillo, tamaño y forma; el tacto brinda una orientación sobre la consistencia del producto; el olfato aporta información brindada por los compuestos volátiles generados por el alimento, y por último el gusto que orientaría sobre las diferentes sensaciones del sabor (Bello, 2000).

Las propiedades organolépticas dentro de la industria alimentaria son de gran importancia, ya que de ello depende que un producto tenga éxito en el mercado.

Objetivo

Investigación de la fermentación de los frutos secos, el estado y desarrollo del arte, para la elaboración de un producto funcional apto para veganos, con la caracterización sensorial y organoléptica correspondiente.

Materiales

- Almendras sin piel, crudas (“Oleander” agricultura ecológica)
- Nueces crudas (“Oleander” agricultura ecológica)
- Anacardos crudos (“Oleander” agricultura ecológica)
- FERLAC, Mesófilo III vegano (“Cultivo iniciador” *Lactococcus lactis spp lactis* y *Lactococcus lactis spp cremoris*)
- Agua mineral natural (Baja mineralización)
- Ácido cítrico (“Nortembio” vegano y ecológico)
- Aceite de oliva (“Artajo” Bio 0.2° acidez, ecológico)
- Sal
- Envases cerrados para la fermentación
- Procesador de alimentos casero
- Olla
- Molde de queso
- Tela para secado de quesos
- Papel de maduración
- Medidor de pH (HANNA instruments)
- Espátulas
- Colador
- Báscula de cocina
- Termómetro de cocina

Métodos

Se hicieron ensayos por duplicado del grupo control y el grupo de prueba con sus respectivas mediciones de pH.

Remojo de frutos secos

Este paso se realizó tanto en el grupo control como el grupo de prueba.

Se colocan 300 gramos de los diferentes frutos secos (anacardos, almendras y nueces) en agua mineral para su remojo durante 8 horas, y luego se escurre el agua con la utilización de un colador.

Cocción de los frutos secos

Este paso se utilizó para el procesamiento del grupo de prueba

La cocción de los frutos secos se realiza a una temperatura aproximada de 87,8 ° C en agua mineral durante un mínimo de 2 minutos, al finalizar se procede a escurrir el agua luego de la cocción.

Proceso fermentativo

- Agua: Los frutos secos del **grupo control**, se colocan dentro del procesador casero de alimentos junto con 120 ml de agua mineral
- Adición de LAB: Se agregan las bacterias ácido-lácticas, tanto en el **grupo control**, como para el **grupo de prueba**, según las indicaciones del vendedor, donde se debe agregar 1 gr de fermentos por cada kg de sustrato. Todo este procedimiento debe ocurrir a temperatura controlada de 22 ± 2 °C
- Acidificación: En estudios anteriores se acidifica luego de la fermentación, en este caso, para el **grupo de prueba** se procede a colocar los frutos secos luego de la cocción, dentro del procesador de alimentos casero junto con el agua acidificada con 1.5% p/p de ácido cítrico con un pH inferior a 4.6
- Adición de sal: En la receta tradicional la sal suele agregarse luego de la fermentación, en este caso fue añadida a la mezcla de fermentación del **grupo de prueba** en una cantidad de 1% p/p, con la finalidad de mejorar el proceso fermentativo.

Se realiza una molienda de la mezcla anterior utilizando un procesador de alimentos, hasta obtener una mezcla homogénea de textura cremosa, luego en envases cerrados, más no herméticos, se coloca dicha mezcla, con la finalidad de que ocurra la fermentación a una temperatura controlada que debe encontrarse a 22 ± 2 °C.

- Verificación del pH: Se utilizó un pH-metro para verificar el pH de las diferentes muestras a diferentes tiempos: 0 horas, 12 horas, 24 horas (donde el pH debe ser menor de 4.5), y a las 48 horas (donde el pH debe ser menor de 4.4)

Proceso a seguir luego de la fermentación

Luego de transcurridas las 48 horas de fermentación se procede a:

- Acidificación: Se agrega al **grupo control** agua acidificada con 1.5% p/p de ácido cítrico con un pH inferior a 4.6
- Adición de sal: En cantidad de 1% p/p al **grupo control**.
- Adición de aceite de oliva: En una cantidad de 4% p/p tanto al **grupo control** como al **grupo de prueba**

Se colocan las muestras en moldes con la utilización de gasas especiales para quesos, con la finalidad de que, en refrigeración a una temperatura de 2 a 4 °C en ambiente controlado, se vayan secando progresivamente.

- A los 3 días quitar del molde y refrigerar a temperatura de 2 a 4 °C.
- Caracterización sensorial de los productos obtenidos con el **grupo de prueba** luego de haber estado en refrigeración durante 4 días.

Encuesta sensorial

Se llevó a cabo la realización de una cata de los productos (**grupo de prueba**) a los empleados de la empresa Bioselección S.L. con la finalidad de conocer la aceptación de los productos.

La encuesta fue realizada a un total de 10 personas empleando los productos obtenidos en el grupo de prueba en este estudio. En cuanto a la sesión sensorial se aplicó limpieza del paladar con agua entre la degustación de cada una de las 3 muestras por cada uno de los consumidores.

Se emplea una evaluación sensorial individual de cada muestra. La aceptabilidad de cada producto se evalúa mediante una escala hedónica de siete puntos: 7. Me gusta mucho, 6. Me gusta moderadamente, 5. Me gusta poco, 4. Ni me gusta ni me disgusta, 3. Me disgusta poco, 2. Me disgusta moderadamente, 1. Me disgusta mucho.

Análisis estadístico

Para analizar los datos de pH obtenidos se procedió a realizar cálculos estadísticos con el programa Minitab19, utilizando la herramienta de T de dos muestras, con la finalidad de comparar las medias del pH de los diferentes frutos secos del grupo control con la media del pH de su análogo en el grupo de prueba. Los valores se expresan como la media de los valores obtenidos, junto a la desviación estándar respectiva. Considerando un nivel de significación de $\alpha < 0.05$.

Resultados preliminares

Grupo control

Luego de realizar la preparación de la mezcla de los ingredientes, se dejó fermentar los diferentes frutos secos por 48 horas, siendo monitoreado el pH a las 0 horas, 12 horas, 24 horas y a las 48 horas (Tabla 1).

A las 12 horas se observó que el pH de las diferentes fermentaciones apenas había variado en comparación al pH de inicio de la fermentación.

A las 24 horas se pudo observar que el pH se encontraba por encima de 4.5 en las tres muestras, siendo el fermento de nueces el que obtuvo el menor pH.

A las 48 horas el pH seguía por encima de 4.5, determinándose así que la fermentación hecha de la forma tradicional no garantiza un pH óptimo para evitar el crecimiento de patógenos indeseados.

Tabla 1: Resultados de medias con su respectiva desviación estándar de los ensayos control

Tiempo (horas)	Anacardos pH control	n	Almendras pH control	n	Nueces pH control	n
0	5.39±0.02	2	5.41±0.02	2	5.24±0.05	2
12	5.28±0.02	2	5.33±0.04	2	4.94±0.01	2
24	4.83±0.35	2	4.89±0.01	2	4.75±0.01	2
48	4.77±0.01	2	4.85±0.01	2	4.63±0.03	2

En cuanto al olor fue posible apreciar un ligero olor a queso en combinación con el olor característico del fruto seco con el paso del tiempo.

También fue posible apreciar como en lo referente a la apariencia a las 24 horas el fermento de nueces tenía una textura más cremosa, seguido por el fermento de anacardos y por último el de almendras, el cual tenía una apariencia más grumosa.

Luego de pasado el tiempo de fermentación, se procedió a darle forma en los moldes correspondientes con la utilización de gasas para que el producto fuera secándose de forma gradual, obteniéndose así, a los 3 días de secado en refrigeración (2 a 4 °C) en ambiente controlado, un producto untable.

Los tres productos obtenidos en esta primera fermentación, no pudo ser sometida a un análisis sensorial por parte del equipo de Bioselección S.L, ya que no se obtuvo un pH que evitara el crecimiento de microorganismos patógenos.

Grupo de prueba

Luego de llevar a cabo el remojo, la cocción y posterior preparación de la mezcla (Figura 5) de los ingredientes, se dejaron fermentar los diferentes frutos secos por 48 horas, siendo monitoreado el pH a las 0 horas, 12 horas, 24 horas y a las 48 horas (Tabla 2).



Figura 5: Mezclas obtenidas para la fermentación de los diferentes frutos secos (De izquierda a derecha: Anacardos, Almendras, Nueces)

Tabla 2: Resultados de medias con su respectiva desviación estándar de los ensayos del grupo de prueba

Tiempo (horas)	Anacardos (pH)	n	Almendras (pH)	n	Nueces (pH)	n
0	5.33±0.04	2	5.29±0.01	2	5.18±0.04	2
12	4.81±0.01*	2	4.79±0.02*	2	4.73±0.04*	2
24	4.47±0.02*	2	4.48±0.01*	2	4.45±0.03*	2
48	4.34±0.04*	2	4.36±0.04*	2	4.32±0.02*	2

Significancia estadística: * p-valor < α lo que indica una diferencia significativa en las medias en comparación con el grupo control

Luego de pasado el tiempo de fermentación, se procedió a darle forma en los moldes correspondientes con la utilización de gasas especiales para quesos, para que el producto fuera secándose de forma gradual (Figura 6).



Figura 6: Mezcla fermentada en sus respectivos moldes con gasas

Obteniéndose así, a los 3 días de secado en refrigeración (2 a 4 °C) un producto untable (Figura 7).



Figura 7: Producto untable obtenido de la fermentación de frutos secos (de izquierda a derecha: Anacardos, almendras, nueces)

En este caso al obtener un pH inferior al esperado que evitaría el crecimiento de patógenos y luego de 3 días de secado se procedió a la realización de una encuesta sensorial con el personal de Bioselección S.L. obteniéndose los siguientes resultados:

Encuesta sensorial

Se llevó a cabo la realización de una cata a los empleados de la empresa Bioselección S.L. con un total de 10 personas encuestadas, dónde el 30% eran hombres y 70% mujeres, con un rango de edades diverso conformado por un 10% menor de 24 años, 20% entre 31 y 40 años y un 70% mayor de 40 años.

Los resultados fueron llevados a porcentajes, ya que el número de catadores fue muy reducido, por lo cual no puede considerarse un resultado significativo de aceptabilidad del producto, obteniéndose los siguientes resultados:

Muestra del fermento de Nueces

Tabla 3: Resultados porcentuales de la muestra del fermento de nueces de la encuesta sensorial con escala hedónica

ESCALA	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	APARIENCIA
Me disgusta mucho		10%			10%
Me disgusta					
Me disgusta ligeramente			20%		
No me gusta ni me disgusta	40%		40%	30%	
Me gusta ligeramente	30%	40%	30%	50%	30%
Me gusta	20%	20%		20%	60%
Me gusta mucho	10%	30%	10%		

Muestra del fermento de Anacardos

Tabla 4: Resultados porcentuales de la muestra del fermento de anacardos de la encuesta sensorial con escala hedónica

ESCALA	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	APARIENCIA
Me disgusta mucho					
Me disgusta					
Me disgusta ligeramente					
No me gusta ni me disgusta	30%	30%	20%		10%
Me gusta ligeramente	10%		10%	20%	10%
Me gusta	40%	50%	30%	20%	40%
Me gusta mucho	20%	20%	40%	60%	40%

Muestra del fermento de Almendras

Tabla 5: Resultados porcentuales de la muestra del fermento de almendras de la encuesta sensorial con escala hedónica

ESCALA	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	APARIENCIA
Me disgusta mucho					
Me disgusta				10%	
Me disgusta ligeramente			20%	30%	
No me gusta ni me disgusta	60%	20%	50%	20%	10%
Me gusta ligeramente	20%	10%	30%	30%	30%
Me gusta	10%	40%			40%
Me gusta mucho	10%	30%		10%	20%

Comparación de los diferentes parámetros

- Olor

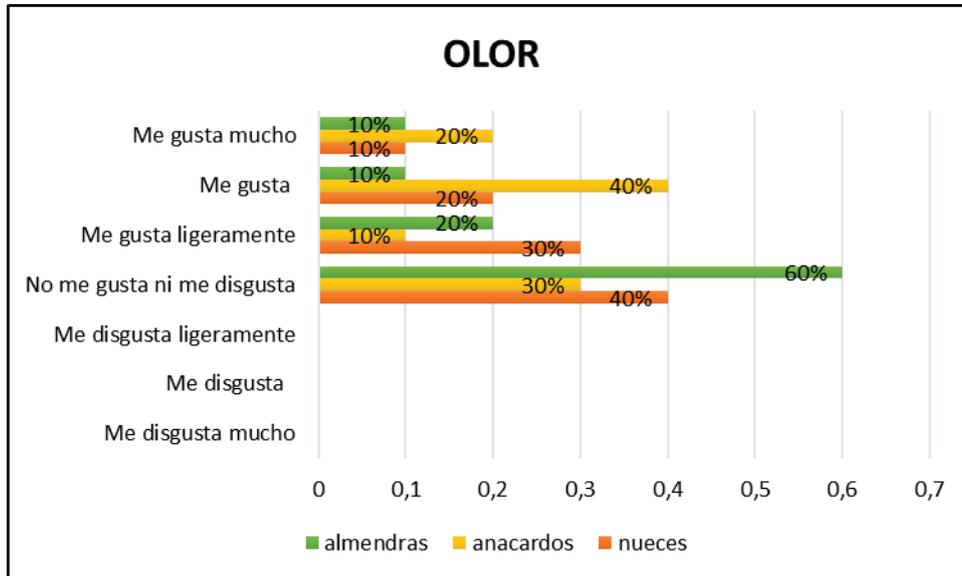


Figura 8: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de olor

Como es posible observar en la figura 8, el fermento que tuvo mayor aceptación entre los catadores, en cuanto al parámetro del olor fue el de anacardos, con un “me gusta” en el 40% de los catadores, mientras que, en los otros dos productos testados, la mayor puntuación fue otorgada por la opción “no me gusta, ni me disgusta”.

- Color

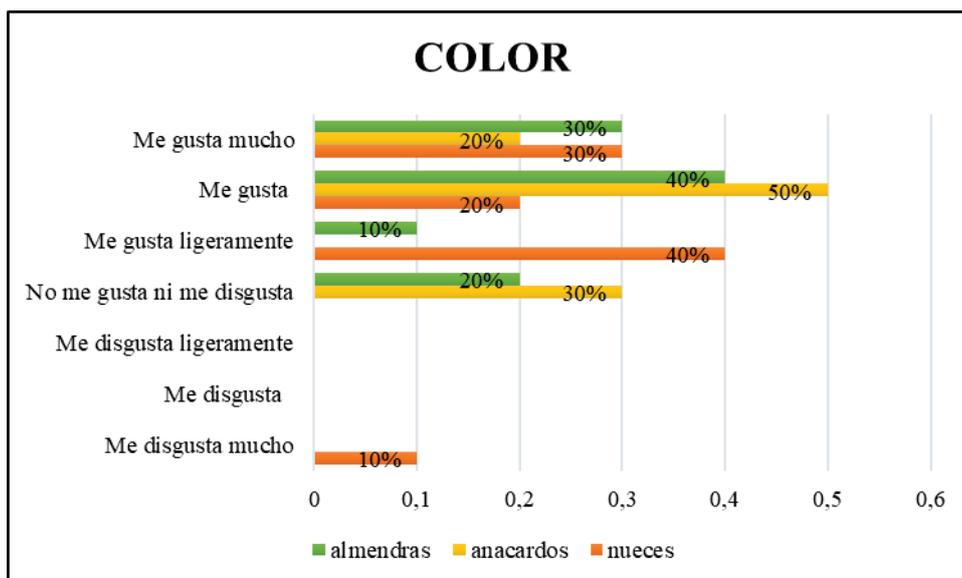


Figura 9: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de color

En la figura 9 se observan que los diferentes fermentos tuvieron una buena aceptación entre los catadores, resaltando que el fermento de nueces obtuvo una valoración un poco más baja, con un 10% de los encuestados con la reacción “me disgusta mucho”

- Textura

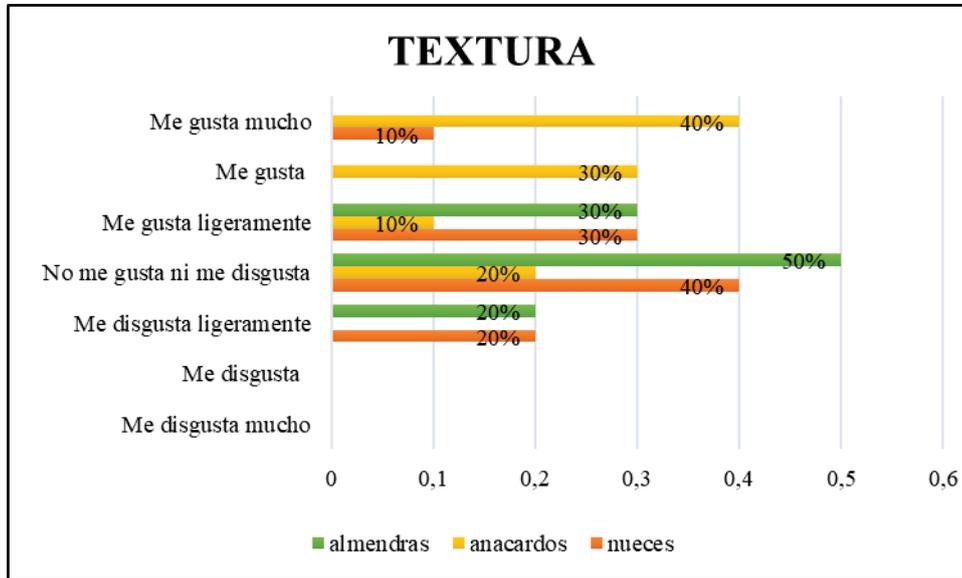


Figura 10: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de textura

Como se puede observar en la figura 10, el fermento con mayor aceptación fue el de anacardos, y dentro de las observaciones el grupo de catadores resaltó que la textura tanto del fermento de nueces como el de almendras era un poco basta.

- Sabor

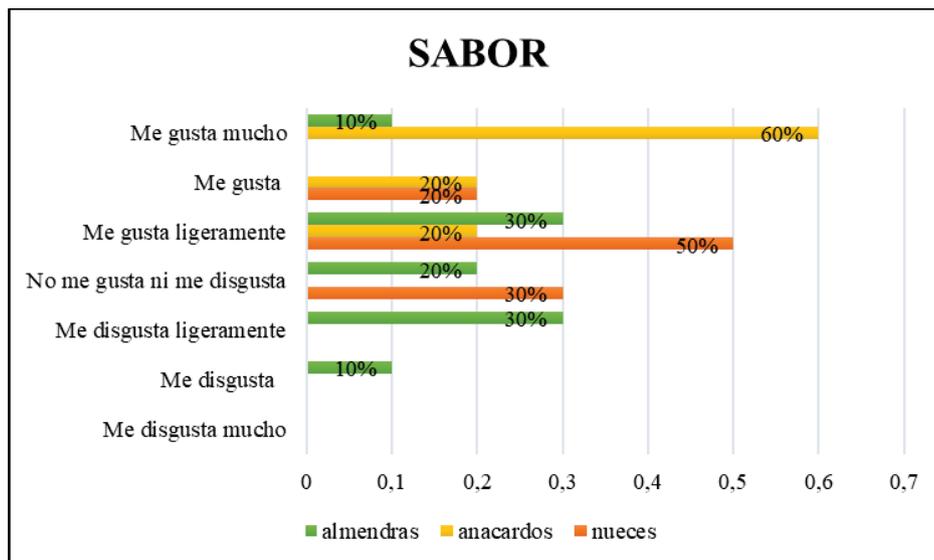


Figura 11: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de sabor

En la figura 11 se observa que el fermento mejor valorado en el parámetro de sabor fue el de anacardos, seguido por el de nueces, mientras que el de almendras obtuvo opiniones variadas en el grupo de cata

- Apariencia

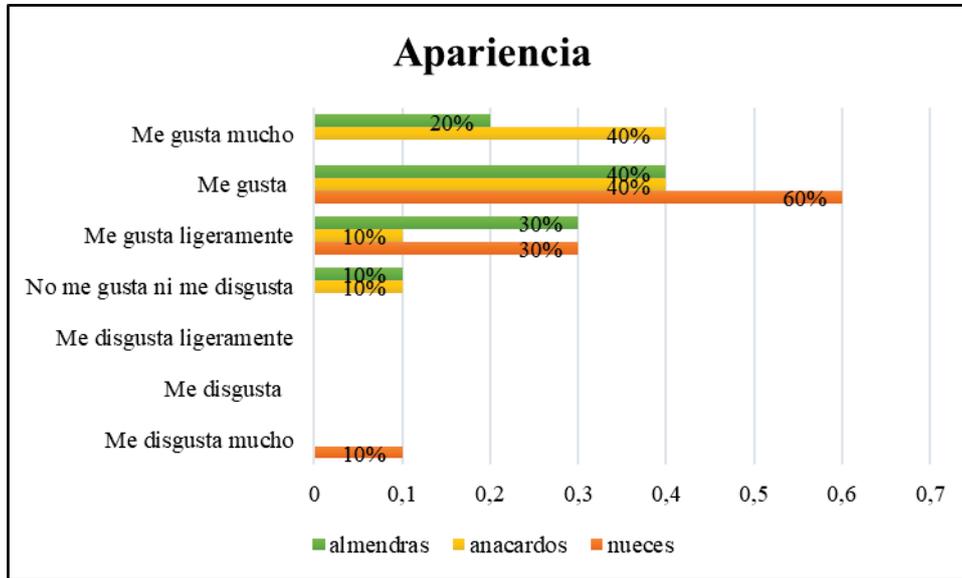


Figura 12: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial (Tabla 3, 4 y 5) sobre el parámetro de apariencia

La figura 12 muestra que los diferentes fermentos recibieron bastante aceptación dentro del grupo que realizó la cata para las tres variedades de frutos secos, resaltando un 10% “me disgusta mucho” para el fermento de nueces.

Preferencias

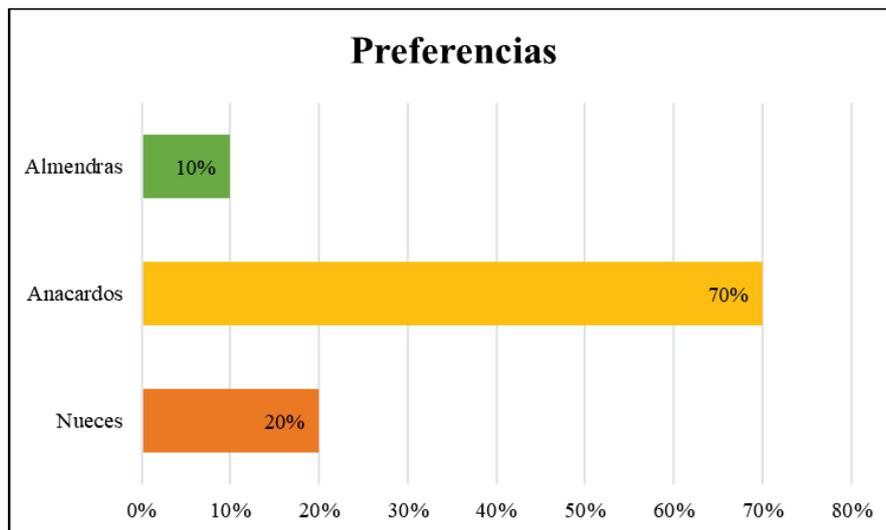


Figura 13: Gráfico comparativo de los porcentajes obtenidos en la encuesta sensorial sobre las preferencias

Se le pidió al grupo de cata que ordenara las diferentes muestras de fermentos de frutos secos según sus preferencias obteniéndose una clara inclinación por el producto elaborado con anacardos (Figura 13).

Discusión

Se pudo determinar que los diferentes pasos para mejorar la fermentación empleados en este estudio permitieron que este proceso fuera óptimo, dentro del procedimiento artesanal, ya que el pH de estos se encontraba en unos niveles que evitan el crecimiento de posibles patógenos indeseables en el fermento, obteniendo un producto seguro para el consumo. Es importante destacar que la temperatura, tanto de la fermentación, como del almacenamiento para el envejecimiento del producto debe estar bien controlada, para que el proceso se de en el tiempo determinado, y en condiciones óptimas.

En el caso de querer realizar un producto de este tipo, es necesario, poseer la instrumentación ideal. En este caso por cuestiones de tiempo y debido a la crisis sanitaria, fue complicado conseguir todos los materiales necesarios, incluyendo dentro del estudio no solo la medición del pH sino un estudio microbiológico y determinación de micotoxinas del producto elaborado, lo cual aportaría información importante en la optimización del proceso.

En cuanto al procesador de alimentos, no se disponía de uno que fuera de gran capacidad y potencia, por lo cual se utilizó un procesador de alimentos casero de poca potencia, que al momento de la elaboración del producto no permitió la obtención de una crema lo suficientemente homogénea. Esto fue notable al realizar las encuestas sensoriales, notándose en las reacciones obtenidas en la textura de aquellos productos (almendras y nueces) que no se pudo obtener una crema lo suficientemente homogénea.

La fermentación que suele realizarse de forma artesanal, necesita de varias pruebas con la finalidad de mejorar el arte, controlando muy bien cualquier variante, ya que se pudo observar en este estudio que la receta tradicional, empleada en el grupo control, no garantiza que se pueda obtener el pH esperado por el simple hecho de acidificar y adicionar la sal luego de la fermentación, representando un problema para la seguridad alimentaria de los consumidores, mientras que en el grupo de prueba al agregar sal y acidificar antes de la fermentación se pudo obtener un pH inferior al esperado, representando de esta forma menos riesgo alimentario.

Al realizar el estudio estadístico, se obtuvieron diferencias significativas en la media del pH luego de transcurridas 12 horas de fermentación, indicando de esta forma una optimización de la fermentación artesanal. Aunque fueron hallazgos positivos se debe tener en cuenta que, para obtener resultados más confiables, se debe contar con un mayor número de mediciones que permitan validar los resultados obtenidos, ya que diferentes cálculos fallan al no tener un mayor tamaño muestral.

En todo proceso en el que se quiere elaborar un nuevo producto alimentario, el análisis sensorial es de gran importancia, ya que ello permitiría predecir la posible aceptabilidad que tendría dicho producto dentro del mercado. Se podrían realizar diferentes variaciones en la creación de estos alimentos no solo con diferentes fermentadores sino con diferentes combinaciones de frutos secos, siempre buscando la mejor aceptabilidad sensorial del mismo.

La combinación de nuevas tecnologías con la fermentación, deben ser tema de estudio, ya que no solo permitan tener un producto más seguro, sino que se obtendría un mayor rendimiento en la producción de estos al optimizar diferentes variables y teniendo en cuenta metodologías que respeten el ecosistema y permitan la creación de nuevos alimentos de forma sostenible. También existe la posibilidad de que estas tecnologías, no solo, permitan mejorar el proceso de desintoxicación y fermentación de los frutos secos, sino que, a su vez, ayuden a eliminar posibles alérgenos presentes en ellos.

Mejorar el proceso artesanal junto con el estudio de tecnologías emergentes no solo mejorarían el proceso fermentativo, sino que permitirían obtener un producto libre de patógenos y el hecho de que sean tecnologías escalables permitirían llevar este producto a nivel industrial.

Un detalle para tener en cuenta es que las encuestas sensoriales, por cuestiones de tiempo y crisis sanitaria, se realizó a los empleados de la empresa, pero esta debe ir dirigida a los consumidores habituales de estos productos, lo cual determinaría el éxito o el fracaso del producto en el mercado, realizándose a un gran número de evaluaciones sensoriales a los consumidores garantizando así resultados fiables.

Conclusiones

- Las recetas caseras, utilizan probióticos o fermentadores sin una certificación de calidad, lo cual genera productos que podrían ser potencialmente

peligrosos para el consumo, al no tener una materia prima certificada y de calidad, como la utilizada en este trabajo.

- La fuente de fermentadores para la realización de estos productos puede ser un problema para la certificación del producto como vegano, por lo cual en este estudio se utilizaron LAB certificadas como producto vegano al crecer en medios sintéticos.
- La elaboración de productos veganos funcionales representa el futuro de la empresa alimenticia, por el crecimiento exponencial de este estilo de vida a nivel mundial, teniendo en cuenta una alimentación más sostenible y ecológica, lo que significa un reto para la industria alimentaria, sobre todo en la búsqueda de un producto que sea rentable tanto para el consumidor como para el sector alimenticio.
- Sería de gran importancia estudiar la combinación de diferentes tecnologías emergentes con la fermentación para mejorar el proceso y obtener un producto libre de micotoxinas, observando los posibles cambios sensoriales, de calidad y durabilidad del alimento.
- Basándose en las diferentes modificaciones hechas a la receta tradicional durante este estudio, sería de interés investigar no solo aquellas características que diferentes fermentadores pueden brindarle al producto, sino aquellos ingredientes adicionales que podrían hacerlos más similares al producto de origen animal que se busca sustituir.
- Durante la realización de este trabajo se remojaron los frutos secos como lo indica la receta tradicional, pero sería de importancia investigar los beneficios de esta técnica para la elaboración de estos productos.
- El estudio microbiológico debe incluirse al estudiar los productos obtenidos tanto en el grupo control como el grupo de prueba.
- Las encuestas sensoriales mostraron una buena aceptabilidad de los productos obtenidos y nos permitiría centrarnos en mejorar aquellos detalles que recibieron menos calificación.
- La encuesta de preferencias mostró que el fermento de anacardos fue el preferido de los catadores y esta información nos permitiría elaborar un producto novedoso partiendo de esta base.

Referencias

- Alasalvar, C. Salvadó, J. Ros, E. (2020). Bioactives and health benefits of nuts and dried fruits, Food Chemistry. 314: 126192
- Aydar, E. Tutuncu, S. Ozcelik, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. Journal of Functional Foods, 70: 103975.
- Bakaloudi, D. Halloran, A. Oikonomidou, A. Rippin, H. Wickramasinghe, K. Breda, J. Chourdakis, M. (2020). Intake, adequacy and quality of the vegan diet in macro and micronutrients in the European population. A systematic review of the evidence. Clinical Nutrition ESPEN. 40:470-471
- Bartkiene E, Krungleviciute V, Juodeikiene G, Vidmantiene D, Maknickiene Z. (2015). Solid state fermentation with lactic acid bacteria to improve the nutritional quality of lupin and soya bean. J Sci Food Agric. 95(6): 1336-1342
- Bello, J. (2000). Ciencia Bromatológica. Navarra, España. Ediciones Diaz de Santos S.A.
- Berggren, A. Jansson, A. Low, M. (2019). Approaching Ecological Sustainability in the Emerging Insects-as-Food Industry. Trends in Ecology & Evolution. 34(2):132-138
- Cappato, L. Ferreira, M. Guimaraes, J. Portela, J. Costa, A. Freitas, M. Cunha, R. Oliveira, C. Mercali, G. Marzack, L. Cruz, A. (2017). Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. Trends in Food Science & Technology. 62:104-112
- CDC - Center for Disease Control and Prevention [Sede web]. Vancouver. 2017. Food issues: notes from the field. Review food safety process and guidance for manufacture of fermented cashew nut cheese. [Acceso 23 de octubre 2020]. Disponible en: <http://www.bccdc.ca/health-info/food-your-health/food-safety/food-issue-notes>.
- Chen, F. Zhang, M. Yang, C. (2020) Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review. Ultrasonics Sonochemistry. 63:104953
- Chen, J. Al, K. Craven, L. Seney, S. Coons, M. McCormick, H. Reid, G. O'Connor, C. Burton, J. (2020). Nutritional, Microbial, and Allergenic Changes during the Fermentation of Cashew 'Cheese' Product Using a Quinoa-Based Rejuvelac Starter Culture. Nutrients. 12(3), 648.
- Chen, R. Ma, F. Li, P. Zhang, W. Ding, X. Zhang, Q. Li, M. Wang, Y. Xu, B. (2014). Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. Food Chemistry. 146:284-288
- Doko, J. Nola, I. Andabaka D. (2010). Food processing industry--the salt shock to the consumers. Casopis Hrvatske Akademije Medicinskih Znanosti. 64(2):97-103
- Dong, X. Liu, T. Xiong, Y. (2017). A novel approach to regulate cell membrane permeability for ATP and NADH formation in *Saccharomyces cerevisiae* induced by air cold plasma. Plasma Science and Technology. 19(2):024001
- El-Bakry, M. Beninati, F. Duggan, E. O'Riordan, E. O'Sullivan, M. (2011). Reducing salt in imitation cheese: Effects on manufacture and functional properties. Food Research International. 44(2):589-596
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), IN, UNICEF, WFP, WHO [Sede web] Rome, 2017. The State of Food Security and Nutrition in the World. Building Resilience for Peace and Food Security. [Acceso 16 de enero de 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i7695e.pdf>
- Food And Drug Administration (FDA) [Sede web] New Hampshire, 2020. CFR - Code of Federal Regulations, Department Of Health And Human Services, subchapter b - food for human consumption (continued) part 173 -- secondary direct food additives permitted in food for human consumption. [Acceso 20 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=173.368>
- Gangadharan, D. Madhavan Nampoothiri, K. (2011). Folate production using *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* with implications for fortification of skim milk and fruit juices. LWT - Food Science and Technology. 44 (9):1859-1864
- Gally, T. Rouaud, O. Jury, V. Havet, M. Ogé, A. Le-Bail, A. (2017). Proofing of bread dough assisted by ohmic heating. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 39:55-62

- Gavahian, M. Mathad, G. Oliveira, C. Mousavi Khaneghah, A. (2021). Combinations of emerging technologies with fermentation: Interaction effects for detoxification of mycotoxins? *Food Research International*. 141:110104
- Gholamhosseinpour, A. Hashemi, S. (2019) Ultrasound pretreatment of fermented milk containing probiotic *Lactobacillus plantarum* AF1: Carbohydrate metabolism and antioxidant activity. *Journal of Food Process Engineering*. 42:12930
- Granato, D. Branco, G. Nazzaro, F. Cruz, A. Faria, J. (2010). Functional foods and non dairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9:292-302
- Hedberg, R. Zimmerer, K. (2020). What's the market got to do with it? Social-ecological embeddedness and environmental practices in a local food system initiative. *Geoforum*. 110:35-45
- Hokmabadi, H. Sedaghati, E. (2014). Safety of Food and Beverages: Nuts, *Encyclopedia of Food Safety*, Academic Press. 340-348
- Hunt, R. Zavalin, A. Bhatnagar, A. Chinnasamy, S. Das, K. (2009). Electromagnetic biostimulation of living cultures for biotechnology, biofuel and bioenergy applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 10(10):4515-4558
- Inan, F. Pala, M. Doymaz, I. (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research*. 43:425-429
- Jaeger, H. Roth, A. Toepfl, S. Holzhauser, T. Engel, K. Knorr, D. Vogel, R. Bandick, N. Kulling, S. Heinz, V. Steinberg, P. (2016). Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends in Food Science & Technology*. 55:84-97
- Janssen, M., Busch, C., Rödiger, M., & Hamm, U. (2016). Motives of consumers following a vegan diet and their attitudes towards animal agriculture. *Appetite*, 105, 643-651
- Jeske, S. Zannini, E. Arendt, E. (2018). Past, present and future: The strength of plant-based dairy substitutes based on gluten-free raw materials, *Food Research International*. 110:42-51
- Ji, H. Dong, S. Han, F. Li, Y. Chen, G. Li, L. Chen, Y. (2018) Effects of dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and functional properties of peanut protein. *Food and Bioprocess Technology*. 11:344-354
- Johanningsmeier, S. Franco, W. Perez-Diaz, I. McFeeters, R. (2012). Influence of sodium chloride, pH, and lactic acid bacteria on anaerobic lactic acid utilization during fermented cucumber spoilage. *J Food Sci*. 77(7):397-404
- Johanningsmeier, S. McFeeters, R. (2013). Metabolism of lactic acid in fermented cucumbers by *Lactobacillus buchneri* and related species, potential spoilage organisms in reduced salt fermentations. *Food Microbiology*. 35(2):129-135
- Jordan, C. (2019). Energy Flow and Feedback Control in Ecological and Economic Food Systems: Understanding Strengths in One System Helps Clarify a Weakness in the Other. *Ecological Economics*. 156:91-97
- Khanal, S. Anand, S. Muthukumarappan, K. Huegli, M. (2014). Inactivation of thermotolerant aerobic sporeformers in milk by ultrasonication. *Food Control*. 37:232-239
- Khodavaisy, S. Maleki, A. Hossainzade, B. Rezai, S. Ahmadi, F. Validi, A. Rashidi, A. Ghahramani, E. (2012). Occurrence of fungal contamination in pistachio and peanut samples from retail shops in Sanandaj province, Iran. *Afr. J. Microbiol*. 6(39):6781 – 6784
- Klupsaite, D. Juodeikiene, G. Zadeike, D. Bartkiene, E. Maknickiene, Z. Liutkute, G. (2017). The influence of lactic acid fermentation on functional properties of narrow-leaved lupine protein as functional additive for higher value wheat bread. *LWT - Food Sci and Tech*. 75: 180-186
- Kumari, S. Gray, A. Webster, K. Bailey, K. Reid, M. Kelvin, K. Tey, S. Chisholm, A. Brown, R. (2020). Does 'activating' nuts affect nutrient bioavailability? *Food Chem*. 30;319:126529.

- Liang, H. He, Z. Wang, X. Song, G. Chen, H. Lin, X. Ji, C. Li, S. (2020). Effects of salt concentration on microbial diversity and volatile compounds during suancai fermentation. *Food Microbiology*. 91:103537
- Lv, H. Pian, R. Xing, Y. Zhou, W. Yang, F. Chen, X. Zhang, Q. (2020). Effects of citric acid on fermentation characteristics and bacterial diversity of *Amomum villosum* silage. *Bioresource Technology*. 307:123290
- Magan, N. (2006). Mycotoxin contamination of food in Europe: early detection and prevention strategies. *Mycopathologia*. 162(3):245-253
- Mattice, K. Marangoni, A. (2020). Physical properties of plant-based cheese products produced with zein. *Food Hydrocolloids*. 105:105746
- Marshall, H. Meneely, J. Quinn, B. Zhao, Y. Bourke, P. Gilmore, B. Zhang, G. Elliott, C. (2020). Novel decontamination approaches and their potential application for post-harvest aflatoxin control. *Trends in Food Science & Technology*. 106:489-496
- Moncada, M. Aryana, K. Boeneke, C. (2012). Effect of mild sonication conditions on the attributes of *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgarius* LB-12". *Advances in Microbiology*. 2:104-111
- Mota, M. Lopes, R. Koubaa, M. Roohinejad, S. Barba, F. Delgadillo, I. Saraiva, J. (2018). Fermentation at non-conventional conditions in food- and bio-sciences by the application of advanced processing technologies. *Critical Reviews in Biotechnology*. 38 (1):122-140
- Nkwonta, C. Ezeokonkwo, C. Obizoba, I. (2013) Comparative Effects of Moist and Dry Heat on Nutrient Potentials of *Tetracarpidium conophorum* Nut in Rats. *Pak. J. Nutr.* 12 (1): 89 – 92
- Nout, M. Motarjemi, Y. (1997). Assessment of fermentation as a household technology for improving food safety: a joint FAO/WHO workshop *Food Control*. 8(5–6):221-226
- Ohba, T. Uemura, K. Nabetani, H. (2016). Moderate pulsed electric field treatment enhances exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris*. *Process Biochemistry*. 51(9):1120-1128
- Patriarca, A. Fernández, V. (2017). Prevalence of mycotoxins in foods and decontamination. *Current Opinion in Food Science*. 14:50-60
- Pankaj, S. Bueno-Ferrer, C. Misra, N. Milosavljević, V. O'donnell, C. Bourke, P. Keener, K. Cullen, P. (2014). Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*. 35:5-17
- Recek, N. Zhou, R. Zhou, R. Te'o, V. Speight, R. Mozetič, M. Vesel, A. Cvelbar, U. Bazaka, K. Ostrikov, K. (2018). Improved fermentation efficiency of *S. cerevisiae* by changing glycolytic metabolic pathways with plasma agitation. *Scientific Reports*. 8 (1):8252
- Ross, R. Morgan, S. Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *Int J Food Microbiol*. 79(1-2):3-16.
- Santos, H. Howell, S. Earnest, C. Teixeira, F. (2019). Coconut oil intake and its effects on the cardiometabolic profile – A structured literature review. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 62: 436-443
- Schlörmann, W. Birringer, M. Böhm, V. Löber, K. Jahreis, G. Lorkowski, S. Müller, A. Schöne, F. Gleis, M. (2015). Influence of roasting conditions on health-related compounds in different nuts. *Food Chemistry*. 180:77-85
- Sebastiani, G. Herranz, A. Borrás-Novell, C. Alsina, M. Aldecoa-Bilbao, V. Andreu-Fernández, V. Pascual, M. Ferrero, S. Gómez, M. García-Algar, O. (2019). The Effects of Vegetarian and Vegan Diet during Pregnancy on the Health of Mothers and Offspring. *Nutrients*. 11(3):557
- Shanakhath, H. Sorrentino, A. Raiola, A. Romano, A. Masi, P. Cavella, S. (2018) Current methods for mycotoxins analysis and innovative strategies for their reduction in cereals: An overview. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 (11):4003-4013
- Shil, P. Bidaye, S. Vidyasagar, P. (2008). Analysing the effects of surface distribution of pores in cell electroporation for a cell membrane containing cholesterol. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 41(5):055502
- Sokolowski, C. Higgins, S. Vishwanathan, M. Evans, E. (2020). The relationship between animal and plant protein intake and overall diet quality in young adults. *Clinical Nutrition*. 39(8):2609-2616

- Song, A. In, L. Lim, S. Rahim, R. (2017). A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory. *Microbial Cell Factories*. 16:55
- Steinkraus, K. (2002). Fermentations in world food processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 1(1):23-32
- Stuetz, W. Schlörmann, W. Glei, M. (2017). B-vitamins, carotenoids and α - γ -tocopherol in raw and roasted nuts. *Food Chemistry*. 221:222-227
- Tabanelli, G. Pasini, F. Riciputi, Y. Vannini, L. Gozzi, G. Balestra, F. Caboni, M. Gardini, F. Montanari, C. (2018). Fermented Nut-Based Vegan Food: Characterization of a Home made Product and Scale-Up to an Industrial Pilot-Scale Production. *J Food Sci*. 83(3):711-722
- Taylor, H. Webster, K. Gray, A. Tey, S. Chisholm, A. Bailey, K. Kumari, S. Brown, R. (2018) The effects of 'activating' almonds on consumer acceptance and gastrointestinal tolerance. *Eur J Nutr*. 57(8):2771-2783
- United States Department of Agriculture [Base de datos en línea]. Washington DC. 2018. USDA Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Foods, Release 2.1. [Actualizada el 8 de mayo de 2019. Acceso 21 de octubre de 2020]. Disponible en <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>.
- United States Department of Agriculture [Sede web]. Washington DC. 2018. USDA Grand Forks Human Nutrition Research Center: Grand Forks, ND.[Actualizada el 13 de agosto de 2016. Acceso 21 de octubre de 2020]. Disponible en <https://www.ars.usda.gov/plains-area/gfnd/gfhnrc/docs/news-2013/go-nuts/>
- United States Department of Agriculture [Sede web]. Washington DC. 2018. USDA What is Organic. [Actualizada septiembre 2011. Acceso 23 de noviembre de 2020]. Disponible en <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/What%20is%20Organic.pdf>
- Villarino, C. Jayasena, V. R. Chakrabarti-Bell, J. (2016) Nutritional, Health, and Technological Functionality of Lupin Flour Addition to Bread and Other Baked Products: Benefits and Challenges Critical Reviews. *Food Sci and Nutrition*. 56 (5): 835-857
- Wischhusen, J. Padilla, F. (2019). Ultrasound molecular imaging with targeted microbubbles for cancer diagnostics: From bench to bedside. *IRBM*. 40 (1):3-9
- World Health Organization [Sede web]. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe. 2014. Reducing Salt Consumption. [Acceso 10 de diciembre de 2020]. Disponible en: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/news/news/2014/09/reducing-salt-consumption>
- World Health Organization [Sede web]. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe. 2014. Micotoxinas. [Actualizada el 9 de mayo de 2018. Acceso 10 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- Xiang, H. Sun-Waterhouse, D. Waterhouse, G. Cui, C. Ruan, Z. (2019). Fermentation-enabled wellness foods: A fresh perspective. *Food Science and Human Wellness*. 8(3):203-243
- Xiong, T. Li, J. Liang, F. Wang, Y. Guan, Q. Xie, M. (2016). Effects of salt concentration on Chinese sauerkraut fermentation. *LWT - Food Science and Technology*. 69:169-174
- Yu, H. Liu, Y. Li, L. Guo, Y. Xie, Y. Cheng, Y. Yao, W. (2020). Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms. *Trends in Food Science & Technology*. 96:91-101
- Yuan, S. Li, C. Zhang, Y. Yu, H. Xie, Y. Guo, Y. Yao, W. (2021). Ultrasound as an emerging technology for the elimination of chemical contaminants in food: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 109:374-385