

## **INFLUENCIA DE UN PREBIÓTICO CUBANO EN LA CALIDAD DE UNA LECHE FERMENTADA SIMBIÓTICA DURANTE SU CONSERVACIÓN**

*Oxalis Rodríguez Martínez<sup>1\*</sup>, José Alberto Rodríguez Martínez<sup>2</sup>, Enrique Rosendo Pérez Cruz<sup>3</sup>, Osmar Hernández Sánchez<sup>1</sup>, María Nieto Tabares<sup>1</sup>, Margarita Núñez de Villavicencio<sup>1</sup> y Beatriz Santos Carballal<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carr. al Guatao km 3 ½, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Dirección Nacional Logística del MININT.

<sup>3</sup>Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Sancti Spíritus. Cuba.

<sup>4</sup>ChiPro GmbH. Anne-Conway-Strasse 1, 28359, Bremen, Alemania.

E-mail: oxalis@iia.edu.cu

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de un sirope prebiótico cubano sobre la calidad de una leche fermentada simbiótica durante su conservación. Se elaboraron dos leches fermentadas, una con 3 % de sirope prebiótico y otra sin sirope (control) y en ambas se empleó 2 % de cultivo de Bioyogur (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*). A las 24 h de elaboradas las variantes se les realizaron evaluaciones sensoriales, determinaciones físico-químicas, microbiológicas y viabilidad del probiótico. La conservación se realizó en envases de polietileno de 200 mL a 6 °C. Durante 21 d la leche fermentada simbiótica se mantuvo con buenos índices de calidad e inocuidad y el valor de viabilidad de *L. acidophilus* fue superior al mínimo terapéutico establecido para los productos probióticos.

**Palabras clave:** probióticos, simbióticos, *Lactobacillus acidophilus*, conservación.

### **ABSTRACT**

#### **Influence of a Cuban prebiotic in the quality of a symbiotic fermented milk during its conservation**

The objective of this work was to evaluate the influence of Cuban prebiotic syrup on the quality of symbiotic fermented milk during conservation. Two fermented milks were prepared one with 3 % of prebiotic syrup and one without syrup (control), and in both, 2 % of Bioyogur (*Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus*) culture was used. 24 hours after the elaboration of the variants, sensory evaluations, physico-chemical, microbiological and probiotic viability determinations were performed. The preservation was carried out in 200 mL polyethylene containers at 6 °C. During 21 d the symbiotic fermented milk was maintained with good quality and safety indexes and the viability value of *L. acidophilus* was higher than the therapeutic minimum established for probiotic products.

**Keywords:** probiotics, symbiotics, *Lactobacillus acidophilus*, conservation.

### **INTRODUCCIÓN**

A los productos lácteos y específicamente las leches fermentadas, durante décadas se le han atribuido cualidades beneficiosas para la salud humana. La utilización de los cultivos probióticos como inóculos para la obtención de leches fermentadas ha adicionado bondades a este tipo de producto lácteo. Entre las características probióticas que se mencionan en la literatura está la prevención de la colonización del tracto gastrointestinal

---

**\*Oxalis Rodríguez Martínez:** Licenciada en Microbiología (UH, 2002). Investigador Auxiliar. Máster en Ciencias Microbiológicas (UH, 2007). Jefa del Departamento de Microbiología. Labora actualmente en el desarrollo de productos alimenticios con probióticos y prebióticos.

por microorganismos patógenos y la modulación del sistema inmunológico. Con el consumo de este tipo de leches fermentadas probióticas en algunos estudios se han obtenido resultados satisfactorios para la terapia de cáncer y de desórdenes gastrointestinales (1).

La incorporación de prebióticos en los alimentos es otra alternativa novedosa y saludable. Entre los prebióticos más empleados en la industria láctea están la inulina y los fructooligosacáridos, ambos son carbohidratos que presentan dos propiedades fisiológicas importantes como son: su no-digestibilidad y su utilización selectiva por la microbiota intestinal beneficiosa. Actualmente se producen leches fermentadas probióticas a las cuales se les adicionan fructooligosacáridos y se clasifican como productos simbióticos por la presencia en ellas de un microorganismo probiótico y sustancias prebióticas donde ambos ejercen efectos favorables para el consumidor (1).

Cuba también ha volcado sus esfuerzos hacia la investigación y desarrollo de leches fermentadas con combinaciones de microorganismos probióticos y productos prebióticos. En el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA) se ha obtenido este tipo de producto lácteo. La estimulación del crecimiento de los probióticos en las leches fermentadas con prebióticos pudiera conllevar a un incremento de la acidez del producto durante su conservación (2) y esto a su vez traer consigo que la leche fermentada resulte rechazada desde el punto de vista organoléptico. Por lo antes expuesto,

este trabajo tuvo como objetivo evaluar la influencia de un sirope prebiótico cubano sobre la calidad de una leche fermentada simbiótica durante su conservación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las materias primas con calidad alimentaria que se utilizaron en los distintos ensayos y durante las corridas experimentales fueron: leche entera en polvo (LEP), proveniente de Nueva Zelanda y leche descremada en polvo (LDP), proveniente de Brasil. Los medios de cultivos para los análisis microbiológicos fueron adquiridos en el Centro Nacional de Biopreparados (BioCEN-OSDE BioCubaFarma): Agar MRS, Agar Violeta Rojo Bilis y Agar dicloran rosa bengala- cloranfenicol. El cocultivo de bacterias lácticas empleado fue el Bioyogur (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*), procedente del Banco de Cepas del IIIA y el sirope con fructooligosacáridos (FOS) fue obtenido en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de Santi Spíritus. La Tabla 1 presenta sus características físico-químicas y microbiológicas.

Siguiendo la tecnología establecida para leches fermentadas de coágulo se elaboraron dos variantes de leches: una sin sirope (utilizada como patrón), y otra con 3 % de sirope FOS. Se estudiaron cinco lotes de cada variante de las leches fermentadas, los cuales cumplieron con los parámetros establecidos para las leches fermentadas en Cuba (3).

**Tabla 1. Características del sirope FOS**

Característica	Sirope FOS
Fructosa (g/L)	36,3
Glucosa (g/L)	198,6
Sacarosa (g/L)	274,9
Kestosa (g/L)	445,2
Nistosa (g/L)	48,3
As (mg/kg)	<0,1
Pb (mg/kg)	<0,5
Cd (mg/kg)	<0,02
Zn (mg/kg)	<0,02
Cu (mg/kg)	<0,06
Fe (mg/kg)	<0,6
Cenizas (% m/m)	0,25
Sólidos solubles (°Brix)	77,50
Densidad (g/mL)	1,38 a 1,39
Coliformes totales (ufc/mL)	<10
Coliformes termotolerantes (ufc/mL)	<10
Hongos y levaduras (ufc/mL)	<10

Ambas variantes evaluadas fueron conservadas en envases termosellables de 200 mL durante el período del estudio en neveras a 6 °C. Se les aplicó un muestreo tomando, aleatoriamente de cada lote y en cada tiempo evaluado, 12 muestras para cubrir los análisis de: evaluación sensorial, conteo de coliformes totales (4) y termotolerantes (5), conteo de hongos y levaduras viables (6) y viabilidad celular del probiótico (7). Se muestrearon los productos a los siguientes tiempos: recién elaborados, a los 7 d y a continuación cada 72 h hasta que no se cumpliera con alguno de los siguientes criterios: 1- la calidad higiénico-sanitaria de los productos se viera afectada por conteos contaminantes microbianos superiores a los límites permitidos para este tipo de producto (8), 2- la viabilidad celular de *L. acidophilus* disminuyera hasta concentraciones menores de  $10^7$  ufc/mL por estar considerada como mínimo terapéutico (9), 3- fuera rechazado el producto desde el punto de vista organoléptico.

La comisión de evaluación sensorial estuvo constituida por siete catadores adiestrados en la cata de productos fermentados. Se empleó para la evaluación de las variantes de leches fermentadas una prueba de aceptación y rechazo (10).

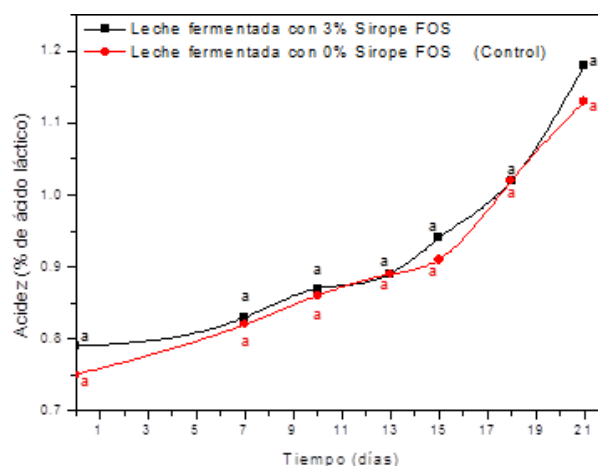
Durante el estudio se observaron las características de las colonias de los microorganismos al estereoscopio así como su morfología al microscopio para conocer si la presencia de los fructooligosacáridos impondría alguna modificación en las características de los microorganismos.

Se determinaron las variaciones de acidez y pH (11) durante la conservación para conocer el efecto del sirope FOS en el metabolismo de las bacterias lácticas pues el aumento en la acidez también contribuye con la aparición de los defectos de sabor ácido y la presencia de sinéresis en la leche fermentada. Los resultados de acidez y pH se procesaron estadísticamente, utilizando una comparación de medias por la prueba de t-Student para conocer si había diferencias significativas entre ambas variantes.

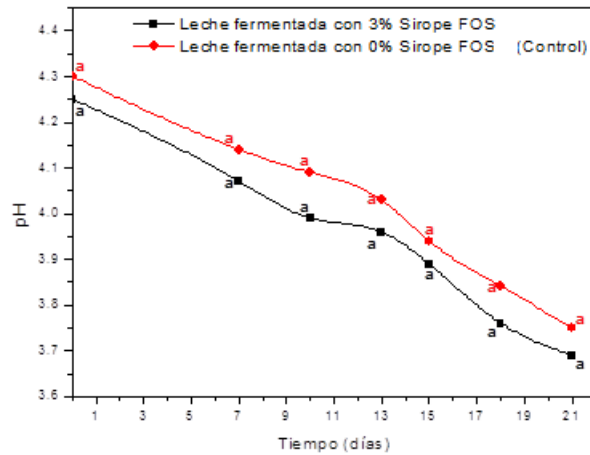
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las Fig. 1 y 2 muestran los resultados del seguimiento de la acidez y el pH en la leche fermentada con sirope FOS y en la leche fermentada control (0 % sirope FOS) durante el estudio de los productos. Se observa para ambas variantes que hay un aumento de la acidez y una disminución del pH en el medio de cultivo en la medida en que se incrementa el tiempo de almacenamiento en condiciones de conservación. El análisis estadístico mostró que entre los valores de acidez y pH desarrollados por ambas variantes no se encontraron diferencias significativas para  $p \leq 0,05$  durante los días estudiados. Aunque es válido señalar que durante el período de incubación de las variantes se logró alcanzar la coagulación 30 min antes en el caso de la leche fermentada con FOS.

A los 21 d se alcanzaron valores de 1,13 y 1,18 % de ácido láctico para la leche fermentada control y la que contenía FOS, respectivamente. Ambos valores son in-



**Fig. 1. Variación en los valores de acidez con el tiempo de la leche fermentada con y sin sirope FOS. Letras iguales indican no diferencias significativas para  $p \leq 0,05$ .**



**Fig. 2. Variación en los valores de pH con el tiempo de la leche con y sin sirope FOS. Letras iguales indican no diferencias significativas para  $p \leq 0,05$ .**

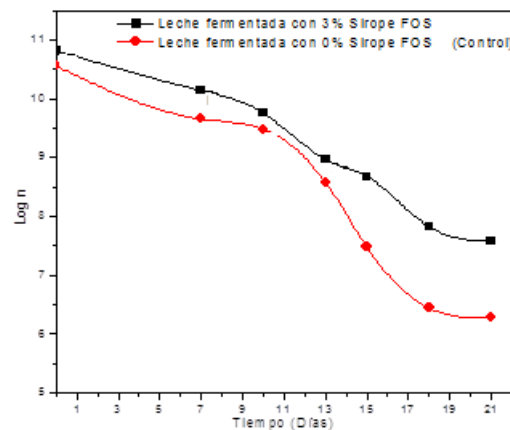
feriores al límite establecido (1,20 % de ácido láctico) por la norma de especificaciones de calidad para leches fermentadas (3).

Por otra parte, en el comportamiento del pH se puede observar que a los 21 d los valores alcanzados por las leches fermentadas fueron: para el control de 3,75 y 3,69 para la que contenía FOS. Estos valores están en concordancia con los referidos en la literatura para este tipo de producto (12, 13).

La cinética obtenida para la acidez y el pH es lógica, pues si no hay sustancias inhibitorias del crecimiento microbiano, debe haber una producción de ácido láctico que es el producto mayoritario del metabolismo netamente fermentativo de estas bacterias, lo que se traduce en disminución del pH y aumento de la acidez durante el almacenamiento (14).

La Fig. 3 presenta los resultados de la viabilidad para la leche fermentada con sirope FOS y la utilizada como control. Los valores de viabilidad celular para ambos productos fueron disminuyendo a medida que transcurría el tiempo de almacenamiento en condiciones de conservación. Durante los primeros 15 d la viabilidad celular en ambos casos se mantuvo por encima del orden de  $10^7$  ufc/mL (mínimo terapéutico establecido) no siendo así en el resto del período estudiado. Este resultado es lógico basado en que *L. acidophilus* es un microorganismo que pertenece al género *Lactobacillus*, cuyos integrantes son capaces de resistir elevados valores de acidez (14).

Para la leche fermentada sin sirope FOS la viabilidad celular a partir de los 15 d de conservado el producto tiene una disminución más marcada que en el caso de



**Fig. 3. Comportamiento de la viabilidad celular de *L. acidophilus* durante 21 d de leches fermentadas con y sin sirope FOS.**

la leche con sirope FOS y cuando alcanza los 18 d se observa una disminución por debajo de  $10^7$  ufc/mL. Por otra parte podemos apreciar que en el caso de la leche fermentada con sirope FOS se alcanzan valores por encima del mínimo terapéutico hasta a los 21 d de conservación. Este resultado es posible que responda a una mayor tasa de células vivas / células muertas cuando se le adiciona a la leche el sirope FOS. Un comportamiento similar fue reportado antes (13) en el estudio del cultivo de *Bifidobacterium bifidum* frente al prebiótico inulina.

Las colonias de *L. acidophilus* en ambas leches fermentadas, se observaron al estereoscopio en forma irregular con proyecciones radiadas. Al microscopio se presentaban como bacilos gram positivos, con finales redondeados, solos, en pares y formando pequeñas cadenas. Las características diferenciales observadas coinciden con las descritas en la literatura para este tipo de lactobacilo (15). Este resultado nos indica que la incorporación del sirope FOS a la leche fermentada con cultivo de Bioyogur no afectó las características de las colonias del microorganismo probiótico ni la morfología de sus células durante el período de este estudio. La calidad microbiológica de todas las variantes estudiadas

durante los 21 d estuvo dentro de los límites establecidos tanto para coliformes totales y termotolerantes como para hongos y levaduras (8).

Al cabo de 21 d, todos los catadores calificaron como aceptable ambas leches fermentadas. Este resultado indica que la incorporación del sirope FOS en la leche fermentada no arroja modificaciones en el producto que cause el rechazo del mismo durante su conservación.

Sobre la base de que a los 21 d de almacenamiento no habían modificaciones en las variantes con FOS que afectaran la calidad y las cualidades organolépticas y probióticas del producto se decidió extender el estudio por los días siguientes obteniéndose como resultado que a los 23 d los catadores detectaron sabores amargos en el producto trayendo consigo su rechazo.

## CONCLUSIONES

Durante 21 días de conservación, la leche fermentada simbiótica en envases termosellables de 200 mL a 6 °C mantuvo buenos índices de calidad e inocuidad y el valor de viabilidad de *L. acidophilus* fue superior al mínimo terapéutico establecido para los productos probióticos.

## REFERENCIAS

1. Rodríguez O, Cortada A, Rodríguez JA, Santos B. Fructooligosacáridos y probióticos en leches fermentadas una alternativa nutricional y saludable. *Cienc Tecnol Alim* 2012; 22(3):53-9.
2. Rodríguez O, Rodríguez JA, Pérez E, Santos B, Cortada A, Trujillo L, Padrón I, Nuñez de Villavicencio M. Evaluación de una fermentación láctica en presencia de un sirope prebiótico. *Cienc Tecnol Alim* 2013; 23(1):14-9.
3. NC TS457. Leches fermentadas. Especificaciones. Cuba; 2007.
4. NC ISO 4831. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida. Cuba; 2010.
5. NC 1096. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de coliformes termotolerantes. Conteo de colonias obtenidas a 44 °C. Técnica de placa vertida. Cuba; 2015.
6. NC 100. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica de placa vertida a 25 °C. Cuba; 2016.
7. García H, Paz T, Tejedor R, Rodríguez O. *Alimentaria* 2004; 359:54-6.
8. NC 585. Contaminantes microbiológicos en alimentos - Requisitos sanitarios. Cuba; 2015.
9. FAO/OMS. Informe del 25 Período de Servicios de la Comisión del Codex Alimentarius sobre la leche y productos lácteos. 2003.
10. Zamora E, Álvarez MD, Rodríguez M, Duarte C. Procedimiento analítico para la evaluación sensorial de productos de la industria láctea. La Habana: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia; 2006.
11. Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists. 20<sup>th</sup> ed. Washington DC.: AOAC International; 2016.
12. Brito AI, Perea J. Evaluación de la fermentación láctica en un yogur dietético. *Cienc Tecnol Alim* 2008; 18(1):20-5.
13. Brito AI, Perea J. Aceptación y Durabilidad de dos leches fermentadas probióticas con aportes de fibra dietética. *Cienc Tecnol Alim* 2010; 20(1):7-9.
14. Leveau JY, Bouix M. Los microorganismos de interés industrial. Zaragoza: Acibia; 2000.
15. Holt NR, Peter HA, James T. Bergey's Manual. Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994.