

LECHE FERMENTADA SIMBIÓTICA CON SIROPE PREBIÓTICO CUBANO

Oxalis Rodríguez-Martínez^{1}, José A. Rodríguez-Martínez², Luis E. Trujillo-Toledo³, Enrique R. Pérez-Cruz⁴, Yisel León-Alomá¹, Osmar Hernández-Sánchez¹, María Nieto-Tabares¹, Margarita Nuñez de Villavicencio¹ y Beatriz Santos-Carballal⁵*

¹*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3 ½, La Habana, Cuba.*

²*Dirección Nacional Logística del MININT, Cuba.*

³*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. La Habana, Cuba.*

⁴*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Sancti Spíritus, Cuba.*

⁵*ChiPro GmbH, Dirección: Anne-Conway-Strasse 1, 28359, Bremen, Germany.*

E-mail: oxalis@iiaa.edu.cu

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue desarrollar una leche fermentada simbiótica con la incorporación de un sirope con fructooligosacáridos (FOS) antes de la fermentación. Se elaboraron con iguales proporciones de materias primas y bajo las mismas condiciones tecnológicas dos leches fermentadas exceptuando el porcentaje del sirope (3 % y patrón 0 %). A partir de las 24 h de obtenidos los productos se realizó la caracterización físico-química, microbiológica y el conteo de células viables de *Lactobacillus acidophilus*. La fuerza del coágulo y viabilidad del probiótico resultaron mayores en la leche fermentada con sirope FOS. Sensorialmente el producto con sirope FOS fue catalogado como muy bueno. En la prueba triangular los jueces detectaron diferencias entre las muestras, encontrando la leche fermentada simbiótica con una mayor consistencia del coágulo. La incorporación del sirope FOS a la leche no tuvo efectos negativos en la calidad de la leche fermentada obtenida.

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

ABSTRACT

Symbiotic fermented milk with Cuban prebiotic syrup

The objective of the work was to develop symbiotic fermented milk with the incorporation of syrup with fructooligosaccharides before fermentation. The objective of the work was to develop a symbiotic fermented milk with the incorporation of a syrup with fructooligosaccharides (FOS) before fermentation. Two fermented milks were prepared with equal proportions of raw materials and under the same technological conditions except for the percentage of syrup (3 % and standard 0 %). After 24 h of the products obtained, the physical-chemical, microbiological characterization and the viable cell count of *Lactobacillus acidophilus* were carried out. The strength of the clot and viability of the probiotic were higher in the milk fermented with FOS syrup. Sensorially the product with FOS syrup was rated as very good. In the triangular test the judges detected differences between the samples, finding the symbiotic fermented milk with a greater consistency of the clot. The incorporation of FOS syrup into milk did not have negative effects on the quality of the fermented milk obtained.

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

INTRODUCCIÓN

La leche fermentada con microorganismos probióticos constituye un alimento que ha ganado popularidad por sus bondades tanto nutricionales como funcionales. Entre las cualidades que se le atribuyen a estos productos se encuentra la de contribuir a la recuperación del equilibrio de la biota intestinal y la inhibición del crecimiento

**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.*

de microorganismos patógenos. En el mercado internacional es frecuente encontrar también productos prebióticos solos o incorporados a alimentos, los cuáles estimulan el crecimiento de los microorganismos probióticos. Entre los prebióticos más utilizados en alimentos se encuentran las inulinas y fructooligosacáridos. Algunos autores indican que cuando se utiliza la combinación de probióticos y prebióticos se potencian las cualidades funcionales de los productos y se reconocen como simbióticos (1).

Recientemente se demostró que es factible incorporar un sirope con fructooligosacáridos al medio de fermentación (leche) con cultivos de Bioyogur sin que se consuma durante 24 h de fermentación la fracción del sirope que tiene cualidades prebióticas (2). Los resultados de este trabajo sentaron las bases para el desarrollo de productos lácteos fermentados con el empleo de ese sirope prebiótico de producción nacional. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue desarrollar una leche fermentada simbiótica con la incorporación de un sirope con fructooligosacáridos antes de la fermentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todas las materias primas que se utilizaron en los distintos ensayos y durante las corridas experimentales tenían calidad alimentaria y fueron: Leche entera en polvo (LEP),

proveniente de Nueva Zelanda, Leche descremada en polvo (LDP), proveniente de Brasil, cultivo láctico Bioyogur (cocultivo de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*), procedente del Banco de Cepas del Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA). El sirope con fructooligosacáridos (FOS) utilizado en el estudio fue obtenido en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología con las características físico-químicas y microbiológicas que se presentan en la Tabla 1.

Con el fin de cumplimentar los parámetros de composición establecidos en la norma de leches fermentadas (3), las leches descremada en polvo (LDP) y entera en polvo (LEP) se disolvieron en la cantidad adecuada de agua en el tanque de yogur, lográndose una leche recombinada de 2,5 % de grasa y 8,5 % de sólidos no grasos. Se elaboraron dos variantes: una sin sirope (utilizada como patrón), y otra con un 3 % de sirope FOS que equivale a 1,5 % de FOS. Se empleó el 3 % de sirope FOS sobre la base de los resultados obtenidos en otro trabajo (2). Se utilizó un agitador a baja velocidad para lograr una rápida disolución. Luego de lograrse el mezclado total de estas materias primas, se calentó hasta 65 °C, temperatura a la cual se realizó la homogenización, a una presión de 17 Mpa. Posteriormente se pasteurizó 90 °C durante 5 min y se refrescó hasta la temperatura de 45 °C.

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 ± 0,02
Sólidos solubles (°Brix)	77,50
Densidad (g/mL)	1,38 – 1,39
Coliformes totales (ufc/mL)	< 10
Coliformes termotolerantes (ufc/mL)	< 10
Hongos y levaduras (ufc/mL)	< 10

Se realizaron cinco corridas de 40 kg cada una. A las dos variantes de leches pasteurizadas (con y sin sirope FOS) se les incorporó el cultivo de Bioyogur al 2 % con una relación 1:1 y se envasaron en potes plásticos termosellables de 200 mL de capacidad. Se incubaron todas las muestras a 45 °C hasta la coagulación total. El producto final se conservó en una nevera de 4 a 6 °C, tal y como está establecido para las leches fermentadas (3).

A las 24 h de conservación se realizó la evaluación de los índices físico-químicos (acidez, pH, grasa, sólidos totales y proteínas) (4) y microbiológicos (viabilidad de *L. acidophilus* (5), coliformes totales (6), coliformes termotolerantes (7), hongos filamentosos y levaduras viables (8) de las leches fermentadas según los procedimientos descritos en los métodos de ensayos normalizados. La fuerza del gel se determinó mediante el empleo de un texturómetro universal INSTRON modelo 1140 para medir la firmeza de coágulo, mediante la prueba de penetración de un disco de 35 mm de diámetro y con una velocidad de penetración de 50/100, el análisis se realizó por triplicado. Se utilizó como control la leche fermentada sin sirope. Todas las mediciones se hicieron a 10 °C, a tiempo cero y a partir del gráfico obtenido de fuerza-distancia, se calculó la fuerza máxima de ruptura del coágulo como una medida de la firmeza. La fuerza de gel se expresó en g/cm² (9). Se realizó una prueba de t-Student para la comparación de las medias.

La evaluación sensorial se realizó con siete muestras representativas de cada corrida experimental, las que fueron evaluadas a las 24 h de producidas, después de conservadas entre 10 y 12 °C. Se confeccionó la ficha descriptiva de la leche fermentada, para lo cual se utilizaron los criterios de consenso de siete catadores adiestrados en la cata de productos fermentados, evaluándose el aspecto, olor, sabor y textura, así como los atributos correspondientes a cada una de ellas. Para la elaboración de la ficha se utilizó como referencia el procedimiento analítico desarrollado en el IIIA para las leches fermentadas (10), adecuándolo a las características del producto desarrollado. La calificación de los atributos descritos en la ficha se realizó de acuerdo con el defecto presentado y la intensidad con que se percibía el mismo. De esta manera, la calificación otorgada pudo expresarse desde excelente a mala para cada atributo. Posteriormente se le asignó a la característica, la

calificación del atributo de menor puntuación. La suma de la calificación de todas las características constituyó la puntuación final del producto, pues los factores de conversión empleados para cada característica fue uno. Finalmente se tuvieron en cuenta las puntuaciones mínimas que debió alcanzar cada característica para poder calificar cuantitativa y cualitativamente el producto.

Para la prueba triangular se utilizaron muestras de las cinco corridas experimentales de leches fermentadas: unas con sirope FOS y los patrones que no contenían sirope. Se realizó una prueba triangular por duplicado con siete catadores en una sala de cata con las condiciones requeridas según la norma (11). Se presentaron a los catadores dos muestras iguales y una diferente, las muestras se codificaron con números de tres dígitos y la presentación de las muestras se realizó con las seis secuencias posibles en cada caso, como indica la prueba, para disminuir el error de tendencia central. Se seleccionó un nivel de significación de 0,5 %. Los resultados se procesaron de acuerdo a la Tabla de Distribución Binomial indicada en la norma (12).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 presenta los resultados de los análisis físico-químicos correspondientes a la leche fermentada con 3 % de sirope FOS y a la leche fermentada utilizada como control, realizados a las 24 h de producidas y conservadas entre 4 y 6 °C. Los sólidos totales, el contenido de grasa y la proporción de proteína presentes en la leche fermentada con sirope prebiótico se corresponden con los valores establecidos en la norma (3), para las leches fermentadas estandarizadas, y a los obtenidos para la leche fermentada patrón. Los valores de acidez obtenidos para ambas variantes se encuentran dentro del rango admitido en la norma, los cuales oscilaron entre el 0,60 y el 1,20 % de ácido láctico, respectivamente (3).

Los análisis microbiológicos realizados a la leche fermentada con sirope FOS arrojaron que tanto los conteos de coliformes totales y termotolerantes como los hongos y las levaduras fueron menores de 10 ufc/mL por lo que se encuentran dentro de los límites establecidos en la norma (13).

Los resultados obtenidos de viabilidad celular de *Lactobacillus acidophilus* a las 24 h de elaboradas las leches fermentadas fueron para la que contenía sirope FOS de $6,2 \times 10^{10}$ ufc/mL y el patrón (0 % sirope FOS)

Tabla 2. Características físico-químicas de la leche fermentada con 3 % de sirope FOS y el control a las 24 h

Característica físico-química	Leche fermentada con sirope FOS		Leche fermentada (control)	
	Media	S	Media	S
Sólidos totales (%)	11,1	0,5	10,7	0,6
Grasa (%)	2,3	0,1	2,4	0,3
Proteínas (%)	2,9	0,2	2,8	0,1
pH	4,2	0,1	4,34	0,1
Acidez (% ácido láctico)	0,79	0,03	0,75	0,04

de $3,5 \times 10^{10}$ ufc/mL. Desde el punto de vista biológico los valores de viabilidad obtenidos nos indican que hay una estimulación de la producción de células cuando hay presencia de sirope FOS en el medio. Este resultado pudiera estar dado por la disponibilidad de glucosa en el sirope FOS que permite su entrada directa a la célula y un consumo más rápido para la obtención de energía metabólica. Esto no puede ocurrir así en la leche sin sirope pues debe primero degradarse la lactosa hasta dejar libre la glucosa y después es que la bacteria realiza la fermentación a partir de este monosacárido. Es un comportamiento que se basa en la economía celular donde el microorganismo al tener presente un monosacárido no destina energía en la utilización metabólica de un azúcar polimétrica (14).

En la evaluación de la fuerza del gel de las variantes estudiadas se puede apreciar en la Fig. 1, que la leche fermentada con sirope FOS, alcanza un valor de 104 g/cm^2 y la leche fermentada control el valor es de 83 g/cm^2 , siendo significativamente diferentes los valores para $p \leq 0,05$. Estos resultados indican que la incorporación del sirope FOS, puede incidir en el aumento de la firmeza del coágulo, lo cual puede atribuirse a la posible estimulación del cultivo de Bioyogur para la

formación de mucílagos, los cuáles son responsables de una textura más viscosa en algunas leches fermentadas. Resultados similares fueron encontrados por Brito (15), donde se incorpora a una leche fermentada inulina, encontrando un aumento de la fuerza de gel, con respecto a los valores obtenidos para los patrones elaborados sin inulina debido a la estimulación del crecimiento de *Bifidobacterium bifidum*.

La Tabla 3 muestra la descripción para cada una de las características organolépticas evaluadas de la leche fermentada con sirope FOS, obtenida mediante criterios de consenso de los jueces adiestrados participantes. Las condiciones de tipicidad de la leche fermentada con sirope FOS concuerdan con las establecidas para las leches fermentadas naturales obtenidas con la tecnología de coagulación en el envase (3).

La Tabla 4 presenta los resultados de los indicadores organolépticos evaluados para la leche fermentada con sirope FOS y el control. La puntuación obtenida para las leches fermentadas con y sin sirope FOS, tanto para las características fundamentales (sabor y textura) como para las no fundamentales (aspecto y olor) sobrepasa el mínimo establecido correspondiente a la clasificación

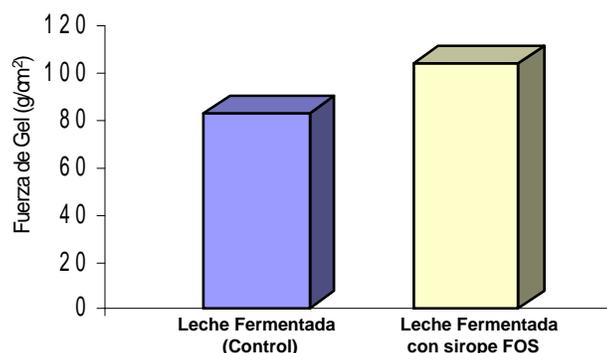


Fig. 1. Fuerza de gel de las leches fermentadas con 3 % de sirope FOS y sin sirope FOS (control).

de muy bueno, por lo que el producto quedó calificado en esta categoría. Estos resultados nos indican que la incorporación del sirope FOS en la leche antes de la fermentación no afecta las cualidades del producto, pues desde el punto de vista sensorial los resultados son similares cuando el sirope no está presente.

Los resultados de la prueba triangular arrojaron que los jueces detectaron diferencias entre las muestras con una probabilidad de error de 0,05. Encontrando la muestra a la que se le incorporó el sirope FOS con una consistencia del coágulo mayor al paladar.

Tabla 3. Ficha descriptiva de la leche fermentada con sirope FOS

Característica	Tipicidad
Aspecto	Color blanco, homogéneo. Coágulo blando, mostrando una textura visual lisa, con muy ligera separación de suero en la superficie.
Olor	Ligero a producto lácteo fermentado, tipo yogur.
Sabor	Ligero a producto lácteo fermentado, tipo yogur, con ligera acidez, sin regusto.
Textura	Coágulo blando, viscoso después de batirse, con ligera presencia de grumos blandos, sin arenosidad al paladar.

Tabla 4. Características organolépticas de la leche fermentada con sirope FOS y el control

Característica	Leche fermentada con 3 % sirope FOS		Leche fermentada (control)	
	Media	S	Media	S
Aspecto	4,49	0,12	4,57	0,15
Olor	4,83	0,04	4,85	0,16
Sabor	4,52	0,12	4,43	0,11
Textura	4,75	0,07	4,23	0,10
Calificación (puntuación)	Muy bueno		Muy bueno	

CONCLUSIONES

Se obtuvo una leche fermentada simbiótica con la incorporación de un 3 % de sirope con fructooligosacáridos de origen cubano con buenas características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales.

REFERENCIAS

- Rodríguez, O.; Cortada, A.; Rodríguez, J. A. y Santos, B. *Cienc. Tecnol. Alim.* 22(3):53-59, 2012.
- Rodríguez, O.; Rodríguez, J. A.; Pérez, E.; Santos, B.; Cortada, A.; Trujillo, L.; Padrón, I. y Nuñez de Villavicencio, M. *Cienc. Tecnol. Alim.* 23(1):14-19, 2013.
- NC TS 457. *Leches fermentadas. Especificaciones.* Cuba, 2007.
- Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists.* 20 ed. Washington D.C., Arlington, VA, 2016.
- García, H.; Paz, T.; Tejedor, R. y Rodríguez, O. *Alimentaria* 359:54-56, 2004.
- NC ISO 4831. *Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía General para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida.* Cuba; 2010.

7. 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.
8. 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.
9. Bourne, M. J. *Food Technol.* (32):62-65, 1978.
10. Zamora, E.; Álvarez, M. D.; Rodríguez, M. y 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. NC ISO 8589. *Análisis sensorial. Directivas generales para el diseño de los salones de ensayo.* Cuba, 2010.
12. NC ISO 4120. *Análisis sensorial. Metodología. Prueba triángulo.* Cuba, 2005.
13. NC 585. *Contaminantes microbiológicos. Regulaciones sanitarias.* Cuba, 2015.
14. Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S.; Buckley, D. H. y Stahl, D. A. *Brock Biology of Microorganisms.* 14 ed. Glenview IL, Pearson Education, Inc., 2015,. pp 216-220.
15. Brito, A. I. y Perea J. *Cienc. Tecnol. Alim.* 19(1): 23-26, 2009.