

ELABORACIÓN DE LECHE FERMENTADA CON PROBIÓTICOS A PARTIR DE ARROZ Y LECHE DE BÚFALA Y SOYA

*Oxalis Rodríguez**, Florencio Cardoso, Juan González, Carola Íñiguez y Margarita Nuñez de Villavicencio

Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3 ½, CP 19200, La Habana, Cuba.

E-mail: oxalis@iiaa.edu.cu

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue elaborar una leche fermentada con cultivos probióticos a partir de arroz y leches de búfala y soya. Se ensayaron diferentes relaciones de leches de búfala y soya con 8 % de adición de arroz. Al producto final se le determinaron las características físico-químicas, reológicas, sensoriales, microbiológicas y de conservación. La leche fermentada tuvo un contenido de proteínas y grasa de 4,80 y 4,20 %, respectivamente. El porcentaje de ácido láctico fue de 0,72, la viabilidad de los probióticos de $7,5 \times 10^8$ ufc/g y la firmeza del gel de 55,6 g/cm². Este producto posee una textura adecuada, buenos indicadores microbiológicos y una aceptación poblacional que lo clasifica entre me gusta y me gusta mucho. El tiempo de vida útil del producto en potes plásticos de 100 mL conservado a 6 °C fue de 9 días, durante este período la viabilidad de los probióticos se mantuvo por encima de 10^7 ufc/mL.

Palabras clave: probióticos, leche fermentada, arroz, soya.

ABSTRACT

Making of fermented milk with probiotics from rice and buffalo and soy milks

The objective of this paper was to elaborate a fermented milk with probiotic, rice, buffalo and soja milks. Different ratios of buffalo and soy milks were evaluated with 8 % of rice. Physical-chemical, rheological, sensorial and microbiological characteristics and shelf life of the product were determined. The fermented milk have a proteins and fat contents of 4.80 and 4.20%, respectively. The lactic acid percentage was 0.72, the viability of the probiotic cells of 7.5×10^8 ufc/g and stability of gel of 55.6 g/cm². This product possesses appropriate sensorial characteristic, the textural wanted, good microbiological indexes, a populational acceptance that classifies them between I like and I like a lot. The shelf life of the product packed in plastic pots of 100 mL to 6 °C was 9 days. The viability of probiotics during conservation was greater than 10^7 ufc/mL.

Keywords: Probiotics, fermented milk, rice, soy.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, el arroz constituye una de las principales fuentes de alimentación de millones de personas y continuará siendo sostén de vida de muchas generaciones. El arroz es rico en energía y una buena fuente de proteínas, contiene una razonable cantidad de tiamina, riboflavina, niacina, vitamina E, calcio, hierro y magnesio. Después de cocinado el arroz tiene un alto valor de digestibilidad, algo mayor que el maíz integral, el sorgo y el trigo integral y menor que el huevo, la leche y la carne (1).

La utilización de la leche de búfala en la industria láctea, es muy común debido a su riqueza en grasa y proteínas que influye en la obtención de mejores

***Oxalis Rodríguez Martínez:** Licenciada en Microbiología (UH, 2002). Investigadora Auxiliar. Máster en Ciencias Microbiológicas (UH, 2007). Ha trabajado en el tema de la calidad microbiológica de productos lácteos y sus derivados y el desarrollo de productos con probióticos y prebióticos. Actualmente se desempeña como Jefa del Dpto. Microbiología de la Dirección de Ciencias e Investigaciones.

rendimientos y texturas en los productos lácteos (2). Por otra parte, la utilización de microorganismos probióticos en productos lácteos fermentados, influye positivamente en la salud humana más allá de una nutrición básica y es hoy una novedad tecnológica recomendada y adoptada internacionalmente. Entre los beneficios atribuidos a las bacterias probióticas se destacan las reacciones antagónicas con las bacterias Gram. negativas y putrefactivas, la acción antitumoral, la producción de ácido fólico, ácido pantótenico (Vit B₅) y otras vitaminas del complejo B. Entre las bacterias probióticas que podemos encontrar están *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum* (3).

El frijón de soya es la planta más eficiente en la producción de proteína vegetal de buena calidad biológica, proporcionando además, aceite, grasas poliinsaturadas, fibras dietéticas y lecitina, así como también leche de soya que es muy utilizada en productos lácteos, de forma directa o mezcladas con diferentes leches. Desde el punto de vista dietético la soya posee grandes ventajas como son: alimentación con proteínas vegetales, fuente vegetal de ácidos grasos omega 3, fuente de fibra dietética, no contiene colesterol, disminuye el riesgo de cardiopatía por aterosclerosis y posee fitoquímicos que promueven la salud por sus propiedades antioxidantes y anticancerígenos (4).

Sobre la base de lo expuesto anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue elaborar una leche fermentada con cultivos probióticos a partir de arroz y leches de búfala y soya.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este trabajo se utilizó leche de búfala (libre de sustancias inhibitoras y la Tabla 1 presenta su composición promedio), leche de soya (9 % de sólidos tota-

les), arroz y azúcar refino (calidad alimentaria). Los cultivos empleados fueron Bioyogur (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*) y Bifigur (*Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* y *Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus*).

Se fijaron los siguientes rangos de trabajo: relación leche de búfala/leche de soya entre 60/40 y 50/50, adiciones de arroz de 8 % , azúcar refino al 11 % , cultivos en relación Bioyogur/Bifigur: 50/50 inoculándose al 3 % , tratamiento térmico del arroz de 35 a 40 min entre 96 y 98 °C, tecnología de coagulación en el envase, acidez del producto en el punto final de la fermentación entre 0,4 a 0,5 % de ácido láctico, refrescamiento durante 20 a 30 min y enfriamiento en nevera de almacenamiento a 6 °C durante 12 h. A partir de los rangos de trabajo fijados se confeccionaron seis fórmulas posibles para la definición de la relación de leches y arroz. Las variantes obtenidas se sometieron a una prueba sensorial de ordenamiento de forma ascendente mediante 12 evaluadores entrenados, aplicando el test de Fiedman (5).

Con la formulación seleccionada se realizaron ocho corridas de 40 L cada una, se determinaron las características físico-químicas: sólidos totales, materia grasa y proteínica, pH y acidez (6), microbiológicas: coliformes, hongos filamentosos y levaduras viables (7-9). La firmeza del gel se determinó mediante el cálculo del esfuerzo con el empleo de un analizador de textura modelo TA.HD plus de la firma Stable Micro Systems. Para esto se llevó a cabo la prueba de penetración de un disco de 35 mm de diámetro y con una velocidad de penetración de 1,67 mm/s, el análisis se realizó por triplicado. Todas las mediciones se hicieron a 10 °C, a tiempo cero y a partir del gráfico obtenido de fuerza-distancia, se calculó el esfuerzo como una medida de la firmeza del gel la cual se expresó en g/cm² (10).

Tabla 1. Composición de la leche de búfala utilizada

Característica	Media	S
Proteína (% m/m)	4,3	0,2
Materia grasa (% m/m)	6,7	0,1
Sólidos totales (% m/m)	15,9	0,2
Cenizas (% m/m)	0,64	0,03
Hidratos de carbono (% m/m)	4,2	0,3
Densidad a 15 °C g/mL	1,0302	0,0009
Acidez (% ácido láctico)	0,16	0,01

Para la descripción sensorial del producto de la variante seleccionada se evaluaron tres corridas cuyas muestras se mantuvieron a 6 °C. Se utilizó una comisión integrada por 12 evaluadores entrenados para describir por consenso los atributos de las características sensoriales de este nuevo producto, establecidas en el procedimiento analítico para la evaluación sensorial de productos de la industria láctea (11). El producto también fue evaluado en un prueba de aceptación poblacional con la participación de 94 consumidores y para ello se utilizó una escala afectiva de siete puntos desde me disgusta extremadamente hasta me gusta extremadamente (12).

Para el estudio de conservación, fueron conservados a 6 °C, cinco lotes de productos, envasados en potes plásticos de 100 g con tapas termosellables. El tiempo de vida útil durante el almacenamiento se determinó considerando criterios microbiológicos, sensoriales y la viabilidad celular de las bacterias probióticas. Los conteos microbiológicos se compararon con los límites establecidos para este tipo de leches fermentadas (coliformes totales < 10 ufc/mL, hongos filamentosos y levaduras viables < 10² ufc/mL) en la norma vigente (13).

Desde el punto de vista sensorial, se constituyó una comisión con 12 evaluadores adiestrados, cada uno de los cuales emitió su criterio basándose en términos de acepto-rechazo. Como punto final de la conservación se adoptó el tiempo al cual el producto se hizo organolépticamente rechazable, se afectara su calidad microbiológica y disminuyera la viabilidad celular de los probióticos por niveles inferiores a 10⁷ ufc/g que constituye el mínimo terapéutico establecido (9).

La viabilidad de las células probióticas se realizó el primer día y después del cuarto día cada 48 h. Este parámetro fue incluido considerando que las

propiedades terapéuticas que se le atribuyen a los microorganismos probióticos, trae aparejada la necesidad de que los mismos mantengan una viabilidad mayor o igual al mínimo terapéutico establecido en el momento de consumo del producto (9).

Los resultados del estudio de conservación se procesaron por las técnicas de regresión basadas en la función para datos incompletos de fallo ajustándose los datos a la distribución de Weibull. Considerando el destino de los productos se admitió un 5 % de unidades defectuosas, probándose además la bondad de ajuste de los datos a la distribución propuesta mediante la técnica no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov (14).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra el procesamiento de la prueba de ordenamiento de Friedman de las diferentes formulaciones estudiadas. Teniendo en cuenta los valores del estadígrafo F (Fcalculada > Fcrítica) se puede afirmar que al menos una de las variantes es diferente ($\alpha=0,05$). Posteriormente, mediante la prueba de diferencias pareadas se definió que no hay diferencias entre A, B y D y entre C, E y F, pero sí entre el resto de las combinaciones. Estos resultados arrojaron que las mejores puntuaciones correspondieron a las fórmulas A, B y D y se seleccionó la fórmula B (leches de búfala 55 % y soya 45 %) por ser la que más leche de soya utiliza en la fórmula.

La Tabla 3 presenta la composición promedio de la leche fermentada obtenida. El contenido de sólidos totales de 30,04 %, cumplió con el resultado esperado en función de la formulación seleccionada y de las materias primas utilizadas. Sin embargo, fue menor al reportado para la leche fermentada hipercalórica 31,5 % (15) y a su vez mayor que los reportados para leches fermentadas hipocalóricas 19,4 y 14,0 % (16, 17).

Tabla 2. Valores obtenidos del procesamiento de la prueba de ordenamiento de la leche fermentada con arroz y leches de búfala y soya

Fórmula	Suma de rangos	F _{calculada}	F _{crítica}
A	58		
B	57		
C	27		
D	49	25,23	11,07
E	35		
F	26		

Tabla 3. Características físico-químicas y reológicas de la leche fermentada con arroz y leches de búfala y soya

Característica	Media	S
Sólidos totales (% m/m)	30,0	0,4
Materia grasa (% m/m)	4,2	0,2
Proteína (% m/m)	4,8	0,1
pH	4,40	0,06
Acidez (% ácido láctico)	0,72	0,05
Firmeza del gel (g/cm ²)	55,6	5,7

Los contenidos de materia grasa y proteína son superiores a los valores informados por otros autores que han desarrollado leches fermentadas empleando leche de soya con pulpas de frutas (grasa 1,3 % y proteínas 2,5 %) y leche de búfala semidescremada (grasa 1,4 % y proteínas 4,34 %) (17, 18). Es importante señalar que el 62 % de las proteínas y el 41 % de las grasas presentes en la formulación seleccionada de leche fermentada son de origen vegetal las cuales poseen reconocidos beneficios nutricionales y son muy utilizadas como extensores de productos lácteos (19).

La acidez y el pH alcanzaron valores acordes con los establecidos en la norma de especificación (20) y más bajos que los de otros tipos de leches fermentadas (15-18), que en general, están entre 0,90 y 1,10 % de ácido láctico y pH de 4,0 a 4,3. El valor de la firmeza del gel de 55,6 g/cm², como una medida de la consistencia de la leche fermentada estudiada, es un valor inferior comparado con otras leches fermentadas cuyos valores oscilan entre 69,6 y 95,1 g/cm² y mayor con respecto a una leche hipocalórica de leche de búfala que tiene una media de 31,5 g/cm² (16). El valor de la firmeza del gel obtenido para la leche fermentada estudiada se debe al alto contenido de sólidos totales que posee el producto y al contenido de almidones presente en el arroz (21) que durante el tratamiento térmico actúa como espesante o estabilizante de la leche fermentada.

En la Tabla 4 se observan las buenas cualidades microbiológicas que presenta el producto terminado, lo cual es garantizado por el proceso tecnológico utilizado, fundamentalmente al tratamiento térmico con elevadas temperaturas. Estos valores cumplen con todos los indicadores microbiológicos considerados en las especificaciones vigentes (13). El conteo de células probióticas viables obtenido resultó superior al mínimo terapéutico establecido de 10⁷ ufc/g (8) lo cual le confiere cualidades probióticas al producto.

Los atributos resultantes del consenso de los panelistas de la variante de leche fermentada seleccionada fueron los siguientes:

OLOR: Ligeramente a producto con fermentación ácido-láctica, muy ligeramente a soya, ligeramente a cereal, sin olores extraños, sin olores a rancio, a moho, a levaduras.

ASPECTO: Color blanco uniforme, con granos de arroz distribuidos uniformemente en toda la masa visible en la superficie, sin desuere, sin separación de grasa.

SABOR: Ligeramente ácido, balanceado con el nivel de azúcar, a producto fermentado, muy ligeramente a soya y a búfala, ligeramente a cereal, sin sabores extraños.

Tabla 4. Conteos microbiológicos de la leche fermentada con arroz y leches de búfala y soya

Indicador (ufc/g)	Media	S
Microorganismos coliformes	< 10	0
Hongos filamentosos	< 100	0
Levaduras viables	< 100	0
Células probióticas viables	7,5 x 10 ⁸	0,3 x 10 ⁸

CONSISTENCIA: Coágulo muy firme, cremoso, granuloso debido al arroz cocinado, difícil de batir.

Los resultados alcanzados en la prueba de aceptación poblacional (Tabla 5) muestran una buena aceptación de este nuevo producto desarrollado. La mayoría de los evaluadores clasificaron al producto entre me gusta y me gusta mucho.

Tabla 5. Aceptación masiva de la leche fermentada con arroz y leches de búfala y soya

Criterio evaluativo	%
Me gusta extremadamente	8,4
Me gusta mucho	43,3
Me gusta	40,8
Ni me gusta, ni me disgusta	7,5

De los valores informados en la Tabla 6, se puede concluir que durante el período de conservación el producto no sufre alteraciones microbiológicas, pues los conteos alcanzados en los indicadores microbiológicos considerados, se encuentran dentro de los límites establecidos para este tipo de producto (13). Los conteos de células probióticas viables obtenidas a los 10 días fueron en un orden menor al inicial, esto puede haber ocurrido debido a la sensibilidad de las cepas utilizadas a valores bajos de pH (22). No obstante, en el producto se conservó una viabilidad durante este período mayor a 10^7 ufc/g, el cual está descrito como el mínimo terapéutico (8).

Tabla 6. Indicadores microbiológicos evaluados durante el estudio de conservación de la leche fermentada estudiada

Indicador (ufc/g)	Inicio	Final
Coliformes	<10	<10
Hongos	<10	<10
Levaduras	<10	<10
Células probióticas viables	$7,5 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$

REFERENCIAS

1. Julianno, B.O. *Rice in Human Nutrition*. Roma, International Rice Research Institute, 1993.
2. FAO. Composición de la leche [en línea]. Consultado 20 Julio 2016 en <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/composicion-de-la-leche/es/#.W1ohQfk37IU>
3. Rodríguez, O.; Cortada, A.; Rodríguez, J.A. y Santos, B. *Cienc. Tecnol. Alim.* 22(3):53-9, 2012.
4. Central Soya. *Grupo de Proteínas*. Folleto Central Soya. Indiana, Company Fort Wayne, 2002.
5. ISO 8587. *Sensory Analysis. Methodology Ranking*. 1988.

El aumento de la acidez constituyó la causa fundamental de la afectación en las calificaciones de las evaluaciones sensoriales. Este fue el indicador por el cual se comenzó el rechazo por parte de los catadores, aunque también algunos evaluadores plantearon que notaron defectos de sabor y olor no propios de las materias primas involucradas o sabor a envejecido.

Sobre la base de los resultados calculados (límite inferior: 3,4 d; límite superior: 10,7 d) y considerando el límite inferior del percentil 5 %, la durabilidad en días del producto envasado en potes plásticos de 100 g y conservado a 6 °C resultó de 9 días.

CONCLUSIONES

La variante seleccionada fue la obtenida con la composición: leches (búfala 55 % / soya 45 %), arroz 8 %, 11 % de azúcar y 3 % de cultivos (Bioyogur 50 % / Bifigur 50 %). Se obtuvo una leche fermentada con un contenido medio de sólidos totales de 30,04 %, materia proteica de 4,8 %, materia grasa de 4,20 %, una acidez de 0,72 % ácido láctico y pH de 4,4. El producto desarrollado presentó una firmeza del gel de 55,6 g/cm², buenas cualidades sensoriales y microbiológicas, lográndose una viabilidad de los probióticos de $7,5 \times 10^8$ ufc/mL. En la prueba de aceptación poblacional esta leche fermentada con arroz clasificó entre me gusta y me gusta mucho. La vida útil de este producto envasado en potes plásticos de 100 g y conservados a 6 °C resultó de 9 días, manteniéndose la viabilidad de los probióticos por encima de 10^7 ufc/mL.

6. AOAC INTERNATIONAL. *Official Methods of Analysis of the AOAC INTERNATIONAL*. 20 ed. Arlington, VA, Association of Official Analytical Chemists, 2016.
7. NC:ISO 4832:2010. *Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía General para la enumeración de los coliformes. Técnica de placa vertida*. Cuba.
8. NC:1004: 2016. *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.
9. García, H.; Paz, T.; Tejedor, R. y Rodríguez, O. *Alimentaria* 359:54-56, 2004.
10. Castro, E. *Parámetros mecánico y textura de alimentos*. Santiago de Chile, Universidad de Chile, 2007, 144 p.
11. 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.
12. Torricella, R. *Evaluación sensorial*. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, 1989.
13. NC 585:2015. *Contaminantes microbiológicos. Regulaciones sanitarias*. Cuba; 2015.
14. Nelson, W. *Applied life data and analysis*. New York, N.Y., John Willey Co., 1982.
15. Íñiguez, C. y Cardoso, F. *Alimentaria* 337:133-136, 2002.
16. Íñiguez, C.; Cardoso, F. y González, J. *Alimentaria* 361:61-64, 2005.
17. Martínez, G.; Espinosa, B.; Valdés, L.; García, A. y Valdés, M. *Cienc. Tecnol. Alim.* 24(3):15-17, 2014.
18. M'Boumba, A. e Íñiguez, C. *Cienc. Tecnol. Alim.* 24(1):54-58, 2014.
19. Gottemoller, T. *La proteína de soya como sustituto parcial de ingredientes lácteos*. Illinois, Oficina Regional para México, Centroamérica y el Caribe, 1999.
20. NC:TS 457:2006. *Leches fermentadas*. Especificaciones. Cuba, 2006.
21. National Starch and Chemical Company. *División Productos Alimenticios Folleto*, 1997.
22. Leveau, J. Y. y Bouix, M. *Los microorganismos de interés industrial*. Microbiología industrial. Zaragoza, Acribia, 2000, pp. 177-183.