

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE PREBIÓTICOS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN Y CONSERVACIÓN DE UNA LECHE FERMENTADA SIMBIÓTICA

Oxalis Rodríguez-Martínez^{1}, Enrique R. Pérez-Cruz², Duniesky Martínez-García², José M. Fernández-Torres², María C. Pavón-Verdecia³ y Lianet Jiménez-Soto¹*

¹*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3 ½, La Habana, CP.19200, Cuba.*

²*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Sancti Spíritus, Cuba.*

³*Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.*

E-mail: oxalis@iia.edu.cu

Recibido: 12-03-2019 / Revisado: 27-03-2019 / Aceptado: 11-04-2018 / Publicado: 30-04-2019

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar la estabilidad de la fracción prebiótica en la leche por efecto del tratamiento térmico y durante la conservación de la leche fermentada simbiótica. Se elaboraron leches de 2,5 % de grasa y 8,5 % de sólidos no grasos a partir de disolver en agua leches en polvo descremada y entera. Para la obtención de las leches fermentadas se siguió el proceso tecnológico de las leches fermentadas con coagulación en envase. Se tomaron tres muestras para el análisis de los carbohidratos en los siguientes momentos: antes y después de la pasteurización, antes y después de la inoculación, y cada siete días durante la conservación. Los carbohidratos se analizaron por el método de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detección por índice de refracción. Se mantuvieron invariables las fracciones de prebióticos después de la pasteurización, la inoculación y durante toda la conservación.

Palabras clave: prebiótico, pasteurización, leche fermentada, conservación.

ABSTRACT

Evaluation of the stability of prebiotics during the process of elaboration and conservation of a fermented symbiotic milk

The objective of this work was to evaluate the stability of the prebiotic fraction in the milk by the heat treatment and during the conservation of the symbiotic fermented milk. Milks with 2.5% fat and 8.5% non-fat solids were prepared from dissolving in skimmed and whole milk powdered milk. To obtain the fermented milk, the technological process of the fermented milk with coagulation in a container was followed. Three samples were taken for analysis of carbohydrates in the following moments: before and after pasteurization, before and after the inoculation, and every seven days during the conservation. The carbohydrates were analyzed by high resolution liquid chromatography coupled to detection by refraction index. Prebiotic fractions remained unchanged after pasteurization, inoculation and during the entire conservation.

Keywords: prebiotics, pasteurization, fermented milk, conservation.

INTRODUCCIÓN

Los fructooligosacáridos u oligofruktosas, también conocidos como FOS, junto a las inulinas, pertenecen a un grupo de compuestos denominados fructanos. Desde el

**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.*

punto de vista comercial, los FOS son los que presentan mayor importancia, pues son los componentes alimentarios que parecen ejercer el mejor efecto prebiótico (1), por ser el sustrato más conveniente para el rápido crecimiento de algunas bacterias colónicas (2). De hecho, fueron los primeros oligosacáridos no digeribles en los que se verificaron propiedades funcionales (3).

En los últimos años las empresas del sector lácteo a nivel mundial han lanzado al mercado algunas leches fermentadas que presentan características probióticas, a las que le incorporan carbohidratos del tipo fructano compuestos por uno a tres residuos de fructosa o más, enlazados a una molécula de sacarosa como por ejemplo los fructooligosacáridos (FOS). Estos carbohidratos denominados prebióticos presentan dos propiedades fisiológicas características: su no-digestibilidad y su utilización selectiva por la microbiota intestinal beneficiosa (4).

A los productos probióticos que se les incorporan prebióticos se denominan simbióticos. Algunas leches fermentadas también han sido incluidas en este tipo de productos cuando se obtienen con la presencia de un microorganismo probiótico y prebiótico donde ambos ejercen efectos favorables para el consumidor.

Las empresas del sector lácteo en Cuba también han volcado sus esfuerzos hacia la investigación y desarrollo de leches fermentadas con combinaciones de microorganismo probióticos y productos prebióticos. En el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA) se ha desarrollado este tipo de producto lácteo con la adición de inulinas o fibras naturales, algunas de ellas adquiridas en el mercado internacional (5, 6).

La estabilidad de los fructooligosacáridos en medios ácidos y/o con alta actividad de agua son estudios que se han llevado a cabo para confirmar su permanencia en la matriz alimentaria en forma de polímeros. Las condiciones de temperatura a las que se expone el alimento también constituyen inconvenientes para el mantenimiento de la estructura de los fructooligosacáridos. Es por estas razones que resultó interesante realizar la evaluación de la concentración del fructooligosacárido antes y después de la pasteurización y durante la conservación de una leche fermentada simbiótica; pues sería un inconveniente que los fructooligosacáridos sufrieran algún tipo de modificación durante la

pasteurización que es un tratamiento térmico que se le realiza a la leche de forma obligatoria cuando se va a elaborar una leche fermentada.

Por otra parte, resultó necesario conocer si durante la conservación el desarrollo de los microorganismos presentes en la leche fermentada o las condiciones ácidas y de actividad de agua de la matriz podrían conducir a alguna disminución en la concentración de los fructooligosacáridos. Considerando los elementos anteriores en este trabajo, se planteó como objetivo realizar la cuantificación de la fracción prebiótica en la leche antes y después del tratamiento térmico, así como durante la conservación de la leche fermentada simbiótica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las materias primas que se utilizaron en los distintos ensayos y durante las corridas experimentales fueron leche entera en polvo (LEP), proveniente de Nueva Zelanda, leche descremada en polvo (LDP), procedente de Polonia, cultivos Bioyogur (cultivo de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus* en relación 1:1, con viabilidad 10^8 ufc/mL y acidez 0,95 % de ácido láctico) originarios del Banco de Cepas del IIIA, sirope con fructooligosacáridos (FOS) obtenido en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) con una composición cada 100 g que se muestra en la Tabla 1.

La leche descremada en polvo (LDP) y la leche entera en polvo (LEP) se disolvieron en la cantidad adecuada de agua con el propósito de lograr una leche recombinada de 2,5 % de grasa y 8,5 % de sólidos no grasos, cumpliendo con la composición normada para leches fermentadas cubanas (7). Se utilizó un agitador a baja velocidad para lograr una rápida disolución. Se pasteurizó la leche a 90 °C durante 5 min y se refrescó hasta la temperatura de inoculación (45 °C). Seguidamente se realizó la inoculación de la leche con el cultivo de Bioyogur al 2 % y se envasó en potes plásticos de 200 mL para su posterior incubación siguiendo la metodología de obtención de leches fermentadas de coágulo. Una vez cuagulada la leche fermentada se realizó la conservación a 6 °C.

Se tomaron tres muestras para la cuantificación de los carbohidratos en las leches en los siguientes momentos: antes y después de la pasterización, antes y después de

la inoculación y durante la conservación. Este experimento se repitió cinco veces. Se graficaron los valores medios obtenidos en cada caso.

Como la matriz de la leche tiene varios componentes que pueden interferir en la determinación de los carbohidratos, se realizó un procesamiento de las muestras antes de ser introducidas en el cromatógrafo.

Las muestras se homogenizaron en un vortex y se tomó 1 mL de cada una. Para la clarificación de las muestras se modificó el método de Carrez debido a que no

se contaba con el reactivo $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, en su lugar se dispuso del ferrocianuro de potasio, que se diferencia en el número de oxidación del hierro. Para realizar la sustitución de los compuestos se calculó estequiométricamente la cantidad necesaria para lograr la misma relación de iones utilizados en el método de Carrez. Se le añadieron 300 μ L de solución I [$K_3Fe(CN)_6$] y luego 100 μ L de solución II [$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$].

Tabla 1. Composición de carbohidratos disueltos en 100 g de sirope con prebióticos

| Carbohidrato | Masa (g) | Carbohidratos totales (%) |
|--------------|----------|---------------------------|
| 1-Kestosa | 45,10 | 56,4 |
| Nistosa | 4,80 | 6,01 |
| Sacarosa | 14,64 | 18,3 |
| Glucosa | 15,41 | 19,1 |

Se realizó una homogenización de las muestras con los reactivos en vortex y se dejó reposar 15 min en espera de que ocurriera la reacción y las proteínas fueran precipitando junto con la sal $Zn_2Fe(CN)_6$ formada como producto de la reacción. Posteriormente, se centrifugaron las muestras a 7 000 min^{-1} durante 10 min. Luego se tomó el sobrenadante y se filtró a través de una membrana millipore™ de 0,2 μ m. El resultado de la filtración se aplicó al equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Las determinaciones por HPLC se realizaron según la técnica operatoria establecida para el análisis de carbohidratos en el CIGB. Se aplicaron 20 μ L de muestra en una columna Aminex HPX 42-C (BioRad, Richmond), con un flujo de trabajo de 0,5 mL/min, una presión de 5 200 kPa y a 85 °C. El disolvente utilizado fue agua purificada y des-ionizada. Se empleó un detector de índice de refracción diferencial Knauer mod. Smartline 2300 (Alemania). Los resultados se analizaron con ayuda del paquete informático BioCrom, ver. 3.0, CIGB, 1996-1997.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Fig. 1, las fracciones prebióticas que corresponden a nistosa y 1-kestosa no sufren variaciones con el proceso de pasteurización. Este resultado

permitió conocer que la temperatura de pasteurización empleada en los procesos de obtención de las leches fermentadas no afecta la estructura de éstos fructooligosacáridos prebióticos. Por lo que resulta factible el empleo de éste jarabe en el desarrollo de productos alimenticios que requieran regímenes de tratamientos térmicos similares al empleado en éste trabajo. En un estudio realizado con jugos naturales de frutas y éste jarabe prebiótico, se verificó la estabilidad de los FOS después de un tratamiento de 75 °C durante 2 min, el cual es inferior al impuesto a la leche con prebióticos en el presente trabajo (90 °C durante 5 min) (8).

Las fracciones de nistosa y 1-kestosa tampoco sufrieron variaciones cuando se incorporó el cultivo a la leche pasteurizada ni durante su conservación (Fig. 2 y 3). Estos resultados indican que la variación del pH (4,75 a 3,69) promovida por el desarrollo de los cultivos lácticos no afectó las estructuras de los prebióticos. El hecho de que se mantenga intacta en la leche fermentada ésta fracción prebiótica durante un período de hasta 28 d de conservación es un resultado positivo pues indica que el producto cumplirá la condición de ser simbiótico.

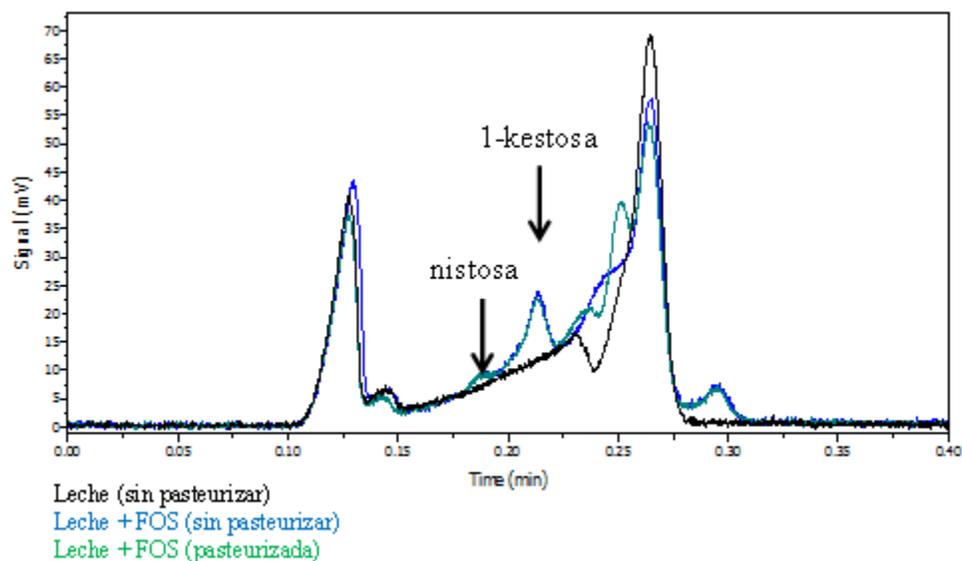


Fig. 1. Concentración de las fracciones prebióticas (nistosa y 1-kestosa) antes y después de la pasteurización.

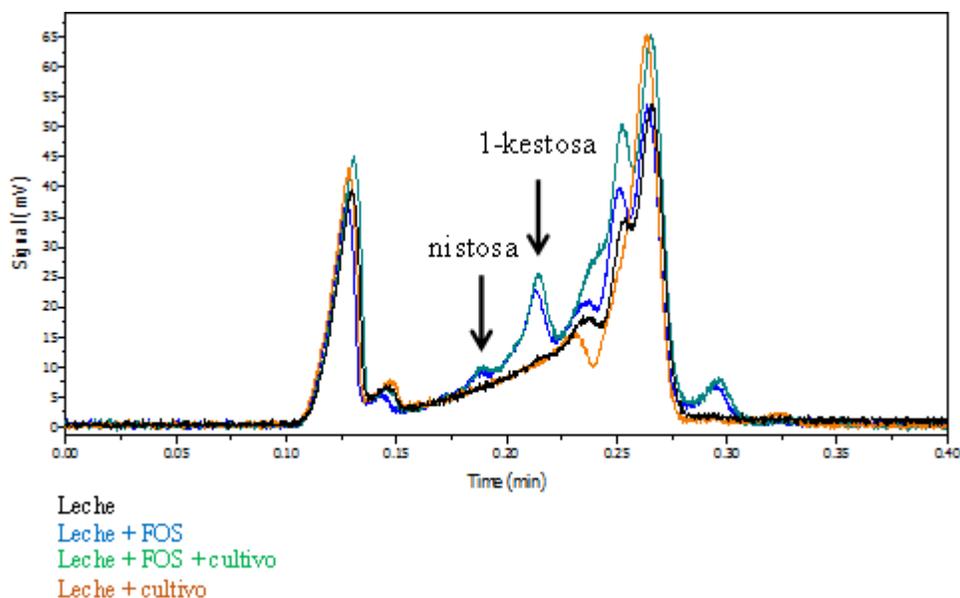


Fig. 2. Concentración de las fracciones prebióticas (nistosa y 1-kestosa) antes y después de la inoculación.

El consumo de un producto con estas características proveerá al consumidor no sólo de cultivos probióticos, sino también de prebióticos que promoverán el crecimiento de la biota colónica beneficiosa. Resultados similares fueron obtenidos en el estudio de conservación de los jugos de frutas naturales con éste jarabe prebiótico, mostrándose estable la fracción 1-kestosa durante el almacenamiento a 4 °C y pH de 6 (8).

CONCLUSIONES

Se mantuvieron invariables las fracciones de prebióticos de la leche fermentada simbiótica después de la pasteurización, la inoculación y durante toda la conservación.

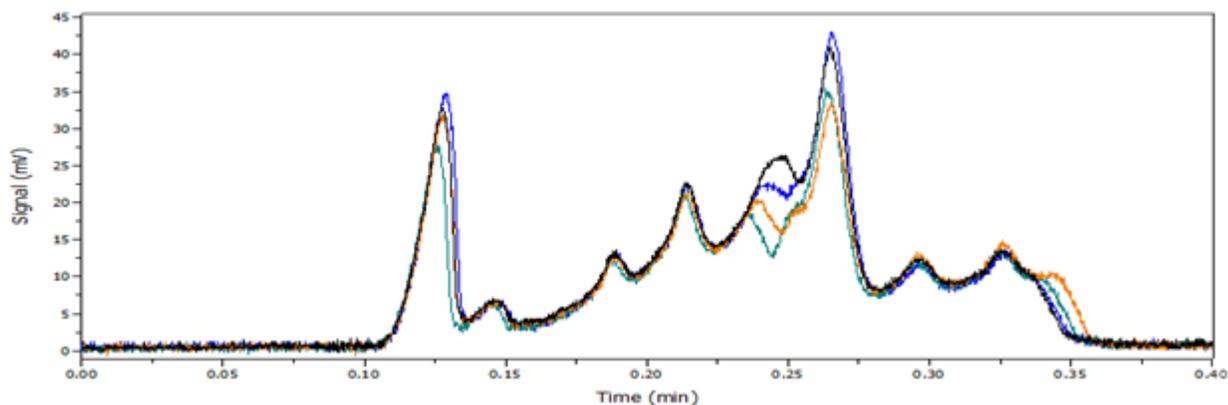


Fig. 3. Concentración de las fracciones prebióticas (nistosa y 1-kestosa) durante la conservación.

REFERENCIAS

1. Tojo R, Leis R. Avances en patología nutricional. Alimentos funcionales. *Bol Ped* 2003; 43: 376-95.
2. Banguela A, Hernández L. Fructans: from natural source to transgenic plants. *Biotechnol Appl* 2006; 23: 202-10.
3. Mussatto S, Manchilha I. Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate* 2007; 68: 587-97.
4. García, C. Caracterización de una mezcla de fructooligosacáridos obtenida por vía biotecnológica (tesis de grado). La Habana: IFAL, Universidad de La Habana; 2007.
5. Brito AI, Perea J. Evaluación de la gelatina como estabilizador en una leche fermentada con adición de inulina. *Cienc Tecnol Alim* 2009; 19 (1): 23-6.
6. Rodríguez O, Rodríguez JA, Pérez E, Santos B, Trujillo L, Padrón I, Nuñez de Villavicencio M. Leche fermentada simbiótica con sirope prebiótico cubano. *Cienc Tecnol Alim* 2017; 27 (3): 21-6.
7. NC TS457. Leches fermentadas. Especificaciones. Cuba; 2007.
8. Ramos RG. Modelación cinética de la hidrólisis ácida de la 1-kestosa (tesis de grado). Villa Clara: Facultad de Química, Universidad Central Marta Abreu; 2015.