

EMPLEO DE FRUCTOOLIGOSACÁRIDO EN EL DESARROLLO DE UNA LECHE FERMENTADA SIMBIÓTICA SABORIZADA

Marbelis Valdés^{1}, Dairon Iglesias², Lisandra Martínez¹ y Tania M. Guzmán³*

¹*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3½, La Habana, Cuba, C.P. 17 100.*

²*Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba.*

³*Universidad UTE, Santo Domingo, Ecuador.*

E-mail: marbe@iia.edu.cu; marbe.veliz@gmail.com

Recibido: 16-12-2021 / Revisado: 22-12-2021 / Aceptado: 27-12-2021 / Publicado: 04-01-2022

RESUMEN

Se evaluó el empleo de diferentes concentraciones de un fructooligosacárido (FOS) en la formulación de una leche fermentada simbiótica saborizada. Se utilizó el método de optimización numérica a través de un diseño de superficie respuesta I-Óptimo de mezcla y lograr obtener la mejor concentración de FOS adecuada en la formulación y garantizar la viabilidad del probiótico. La formulación óptima se caracterizó química, microbiológica, reológica y sensorial. Se confirmó que la leche fermentada simbiótica saborizada cumplió con los parámetros de calidad establecidos. La mejor concentración de FOS en la formulación del producto fue de un 5 % m/m y 3 % m/m de azúcar. La viabilidad celular del probiótico (10^7) expreso que se obtuvo un producto de características funcionales con un efecto positivo sobre la salud humana, cumpliendo con los índices de calidad esperados para el producto. Los indicadores microbiológicos evidenciaron la buena calidad higiénica sanitaria del producto.

Palabras claves: leche fermentada simbiótica saborizada, cultivo probiótico, prebiótico, FOS.

ABSTRACT

Use of fructooligosaccharide in the development of a flavor symbiotic fermented milk

The use of different concentrations of a fructooligosaccharide (FOS) in the formulation of a flavored symbiotic fermented milk was evaluated. For this, the numerical optimization method was used through a design of the I-Optimal response surface of the mixture and to obtain the best concentration of adequate FOS in the formulation and guarantee the viability of the probiotic. The optimal formulation was characterized physicochemical, microbiological, rheological and sensory. It was confirmed that the flavored symbiotic fermented milk complied with the established quality parameters. The best concentration of FOS in the product formulation was 5% m/m and 3% m/m sugar. The cell viability of the probiotic (10^7) expressed that a product with functional characteristics was obtained with a positive effect on human health, complying with the quality indexes expected for the product. The microbiological indicators evidenced the good hygienic sanitary quality of the product.

Keywords: flavored symbiotic fermented milk, probiotic culture, prebiotic, FOS.

***Marbelis Valdés-Veliz:** *Graduada de Ingeniera Química (CUJAE, 2011). Máster en Ingeniería Alimentaria (Facultad de Ingeniería Química, CUJAE, 2018). Es Investigador Agregado de la Dirección de Lácteos del Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA), con 21 años de experiencia en la Especialidad de Productos Lácteos. Actualmente alumna regular del programa Doctorado en Ingeniería de los Alimentos de la Universidad del Bío Bío, en la Facultad de Ciencias de la Salud y*

INTRODUCCIÓN

Un alimento se puede vender con declaraciones de probióticos, si logra mantener una alta viabilidad bacteriana y una tasa de supervivencia no solo en el momento de la fabricación y durante el almacenamiento, sino también al pasar por el tracto gastrointestinal, que se sabe que es un entorno hostil para los probióticos. El beneficio de los probióticos está fuertemente influido por la capacidad de supervivencia de los microorganismos, por lo que los probióticos deben ser estables y activos tanto en el producto y el hospedador (1-4).

Los intentos recientes para aumentar la eficacia probiótica incluyen el desarrollo de productos simbióticos mediante el enriquecimiento con prebióticos apropiados, tales como sustancias no digeribles que estimulan selectivamente el crecimiento y / o la actividad de una o especies bacterianas limitadas que residen en el colon (5, 6). El término «prebiótico» se refiere a ingredientes alimenticios que son fermentados selectivamente por la biota beneficiosa intestinal y modifican su composición y actividad metabólica por los microorganismos hospedadores, los que les confiere un beneficio para la salud (6-8). El beneficio selectivo de los prebióticos sobre ciertos microorganismos también se puede encontrar en la literatura científica, como por ejemplo la ingestión de fructooligosacáridos y la inulina favorecen de forma selectiva a las bifidobacterias presentes en los consumidores (9). También están reconocidos como prebióticos el GOS, XOS, almidón resistente, pectina, compuestos similares a la pectina y β - Los glutanos se reconocen como compuestos prebióticos (6,10).

Numerosos autores han estudiado el impacto de los probióticos, prebióticos y simbióticos en productos lácteos especialmente las leches fermentadas y el yogur (9, 11-16). Considerando la importancia y beneficios aportados por estos microorganismos beneficiosos para la salud humana; el objetivo de este trabajo fue determinar las proporciones adecuadas de un sirope prebiótico cubano (FOS) para desarrollar una leche fermentada simbiótica saborizada de buena calidad sensorial, fisicoquímica y microbiológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos fueron realizados a escala de laboratorio. Cada corrida experimental fue de 10 L. Se realizó un diseño de superficie respuesta I-Óptimo de mezcla, empleando el método de optimización numérica y así generar un modelo matemático que pudiera describir las variaciones de las variables en el producto. Los factores a evaluar fueron los niveles de azúcar (A) y de FOS (B), siendo $A + B = 8\%$ m/m y manteniendo fijo el resto de los componentes. Para esto se evaluaron 10 corridas experimentales incluyendo 2 réplicas. La Tabla 1 muestra las corridas del diseño experimental. Las variables de respuesta para el experimento fueron acidez expresada en por ciento de ácido láctico, sabor dulce, viscosidad, tiempo de fermentación, viabilidad celular del probiótico y calidad global.

Para el procesamiento estadístico de los resultados del diseño se utilizó el Design Expert 11.1.0.1 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.), que permitió obtener los modelos matemáticos codificados correspondientes

Tabla 1. Corridas experimentales

Corridas	Azúcar (%)	FOS (%)
1	6,0	2,0
2	3,3	4,7
3	3,0	5,0
4	6,0	2,0
5	4,0	4,0
6	2,0	6,0
7	2,0	6,0
8	4,0	4,0
9	4,7	3,3
10	5,0	3,0

para cada variable de respuesta. En la optimización y selección de la o las mejores variantes se aplicaron las siguientes restricciones: que la fermentación se logre en un tiempo no mayor a las 2,5 horas y que la acidez a las 24 h de elaborado el producto se encontrara en el rango de 0,60 a 1,20 % m/m expresada en ácido láctico como lo establece la norma cubana (17). Los atributos sensoriales evaluados debían cumplir la calidad global con una puntuación mayor de 6 puntos equivalente a un producto de bueno a excelente, sabor dulce entre ligero y moderado equivalente a puntuaciones de 5 a 8 y la viscosidad se clasificó entre moderado y marcado equivalente a puntuaciones de 6 a 8 (18). En el caso del indicador viabilidad celular del probiótico la restricción a cumplir fue que las ufc fuesen superior o igual a 10^7 . Finalmente se realizaron tres corridas de 100 kg de la leche fermentada simbiótica saborizada con la formulación y nivel óptimo de FOS seleccionado y se tomaron cinco muestras representativas de cada lote (19). Posteriormente se determinó la acidez total expresada como ácido láctico (20), el contenido de materia grasa y proteínica, así como los sólidos totales y las cenizas (21). Los hidratos de carbono fueron obtenidos por diferencia. Además se efectuó el conteo de microorganismos coliformes (22), conteo de células viables de *Lactobacillus acidophilus* (23), hongos y levaduras (24). La evaluación sensorial global se llevó a cabo por siete catadores entrenados haciendo uso de la metodología descrita para el control de calidad sensorial según Duarte (2017) (18).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los modelos codificados predictivos obtenidos del procesamiento estadístico de los resultados se muestran a continuación: donde A representa el componente Azúcar y B representa el componente FOS.

$$\text{Acidez} = + 0,4093 A + 0,1658 B - 0,3606 AB \quad (R^2 = 0,9186)$$

$$\text{Sabor dulce} = +4,81A + 3,99B + 6,59AB - 5,44AB(A - B) - 12,48AB(A - B)^2 \quad (R^2 = 0,8981)$$

$$\text{Viscosidad} = +6,25A + 7,49B - 9,75AB + 5,34AB(A - B) + 55,88AB(A - B)^2 \quad (R^2 = 0,8207)$$

$$\text{Calidad global} = +6,45A + 8,00B - 9,59AB + 12,71AB(A - B) + 40,65AB(A - B)^2 \quad (R^2 = 0,9579)$$

$$\text{Tiempo de fermentación} = +2,55A + 3,26B - 2,67AB \quad (R^2 = 0,8941)$$

$$\text{Viabilidad} = +8,60A + 60,04B - 85,72AB \quad (R^2 = 0,9582)$$

Durante los experimentos el análisis de varianza demostró que el valor P fue menor que 0,05, por ende los modelos presentaron diferencias significativas y las pruebas para la falta de ajuste no dieron significativas. Se determinó el coeficiente de determinación, que es la variación proporcional en la respuesta atribuida al modelo más que al error aleatorio y los valores de R^2 muestran que los modelos ajustados para las variables respuestas explican entre 82 y 95 % m/m de la variabilidad. En todos los modelos se cumplió que la prueba de falta de ajuste fue no significativa ($p \geq 0,05$). Además se comprobó que en el análisis de los residuos no se detectaron observaciones atípicas, los residuos estandarizados se ajustaron a la distribución normal.

El componente azúcar tuvo una mayor contribución, indicó de manera positiva, por lo que aumenta la acidez y en el caso de la interacción simple de ambas materias primas tuvieron un efecto negativo sobre la variable de respuesta, es decir que en la medida que decrece este factor, aumenta el indicador descrito. Los resultados son lógicos, esperados y concordantes con los referidos en la literatura en cuanto a la influencia ejercida por el prebiótico FOS en las leches fermentadas (6, 8).

Entre las variables viscosidad y calidad global se observa una fuerte correlación positiva lo que indica que la calidad final del producto desde el punto de vista sensorial estuvo condicionada por la viscosidad de las muestras analizadas, algo que es característico en este tipo de producto. En la ecuación codificada para el tiempo de fermentación, los coeficientes lineales del azúcar, FOS y la interacción lineal de ambas materias primas mostraron diferencias significativas teniendo una mayor contribución el coeficiente correspondiente al FOS, superior en una unidad al resto de los factores, indicó de manera positiva, es decir que cuando incrementa la composición de esta materia prima, disminuye el tiempo de fermentación.

El modelo resultante para la viabilidad mostró que el FOS ejerció una mayor influencia que el azúcar, indicando de manera positiva, puesto que a medida que se incrementa el contenido de FOS en la mezcla, aumenta

la viabilidad. Tal comportamiento es coincidente con lo estudiado y planteado por otros investigadores que utilizaron probióticos y prebióticos en diferentes estudios (25-27). La mejor formulación de la leche fermentada simbiótica saborizada resultó ser la variante experimental con 3 % m/m de azúcar y 5 % m/m de FOS, cuyos valores de intensidad de sus variables respuestas estaban dentro de las restricciones impuestas al Programa estadístico utilizado. Se destaca que la mejor formulación para este producto cumple con los requerimientos de los atributos texturales, todos ellos son empleados como señales de calidad sensorial a la hora de adquirir el producto en el mercado, determinando su aceptación y preferencia (18).

La Tabla 2 muestra los resultados de los análisis físicos y químicos que se le realizaron a la leche fermentada simbiótica saborizada con la proporción de FOS más efectiva. Los resultados de los análisis mostrados cumplieron con los valores esperados para las leches fermentadas según la norma cubana actual (17), y responden a las características de la formulación y materias primas empleadas. La Tabla 3 muestra los resultados de los conteos microbiológicos, donde se puede apreciar que cumplen con los parámetros aprobados por la norma, la cual regula los contaminantes microbiológicos en alimentos (19). El proceso productivo de la leche fermentada simbiótica saborizada con la proporción de FOS más efectiva mantuvo una buena calidad higiénica sanitaria del producto y no se afectaron las características microbiológicas esperadas del producto. La viabilidad de los cultivos probióticos cumplió con los niveles mínimos (*Lactobacillus acidophilus*: $6,5 \times 10^7$) requeridos para alcanzar un efecto terapéutico como bacterias probióticas (23). El ligero aumento de la viabilidad en la leche fermentada con la proporción de FOS más

efectiva con respecto a otras leches fermentadas estudiadas (4, 5), pudo deberse a la competencia de los microorganismos adicionados pues la simbiosis entre ellos influye en su proceso de desarrollo.

La evaluación sensorial global obtenida para este producto fue de excelente, coincidente con la que reciben normalmente las leches fermentadas. Durante la evaluación sensorial los catadores no detectaron la presencia de acidez elevada, ni de un sabor atípico a producto fermentado. Por lo que este tipo de producto pudiera, en algún momento, ser comercializado, para brindar a la población otra variedad de producto con propiedades funcionales desde el punto de vista nutricional (17).

CONCLUSIONES

Se confirmó que el empleo de FOS para elaborar una leche fermentada simbiótica saborizada se comportó positivamente, ejerciendo una mayor influencia el contenido de FOS en la mezcla para estimular el desarrollo celular del probiótico en el producto terminado. La mejor variante para la producción por la tecnología instalada resultó con el empleo 5 % m/m de FOS y 3 % m/m de azúcar. El producto cumplió con los índices esperados de calidad, según los análisis físico-químico, microbiológicos, sensoriales y composicionales con un 2,73 % m/m de proteínas, grasa de 3,25 % m/m, sólidos totales de 20,45 % m/m, hidratos de carbono de 13,13 % m/m.

Tabla 2. Resultados de la caracterización físico-química de la leche fermentada simbiótica saborizada

Indicadores	Resultados
Grasa (%)	3,25 (0,00)
Proteínas (%)	2,73 (0,01)
Humedad (%)	79,55 (0,01)
Hidratos de carbono (%)	13,13 (0,01)
Sólidos totales (%)	20,45 (0,04)
Valor calórico (kJ)	89

n = 5

Tabla 3. Resultados de los análisis microbiológicos para la leche fermentada simbiótica saborizada

Indicadores	Resultados
Microorganismos a 30 °C	< 10
Coliformes (ufc/g)	< 10
<i>Escherichia Coli</i>	Ausente
<i>St. coagulasa</i> positiva	< 10 ²
<i>Salmonella</i> en 25 g	Ausente
Viabilidad (UFC /g)	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1.2 · 10 ⁸

n = 5

REFERENCIAS

1. Kailasapathy K, Chin J. Survival and therapeutic potential of Probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol Cell Biol* 2000; 78(1):80-8.
2. Hongbo Li, Tianqi Zhang, Chunshuang Li, Shan Zheng, Hongjuan Li, Jinghua Yu. Development of a microencapsulated synbiotic product and its application in yoghurt. *LWT - Food Science and Technology* 2020; (122):109033.
3. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2014; 11(8):506-514.
4. Kareb O, Aïder M. Whey and Its Derivatives for Probiotics, Synbiotics, and Functional Foods: a Critical Review. *Probiotics & Antimicro Prot* 2019; 11(2):348-369.
5. Ghaderi-Ghahfarokhi Maryam, Zarei Mehdi, Farhangnia Peyman. Developing novel synbiotic low-fat yogurt with fucoxylogalacturonan from tragacanth gum: Investigation of Quality parameters and *Lactobacillus casei* survival. *Food Sci Nutr* 2020; (8):4491-4504.
6. Zepeda-Hernández Andrea, García-Amezquita Luis Eduardo, Requena Teresa, García-Cayuela Tomás. Review Probiotics, prebiotics, and synbiotics added to dairy products: Uses and applications to manage type 2 diabetes. *Food Research International* 2021; (142):110208.
7. Kolida S, Tuohy K, Gibson GR. Prebiotic Effects of Inulin and Oligofructose. *Br J Nutr* 2002; 87(2):193-7.
8. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Reid G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2017; 14(8):491-502.
9. Rodríguez O, Rosales M, Sánchez M, Cuellar H, Pérez ERC, Menéndez C. Estudio del comportamiento de cultivos lácticos probióticos en presencia de prebióticos. *Cienc Tecnol Alim* 2021; 31(1):7-12.
10. Senés-Guerrero C, Gradilla-Hernández MS, García-Gamboa R, García-Cayuela T. Dietary fiber and gut microbiota. *Science and Technology of Fibers in Food Systems*. In Welti-Chanes J, Serna-Saldívar SO, Campanella O & Tejada-Ortigoza V (Eds.), Springer International Publishing Food Engineering Series; 2020.pp. 277-298.
11. Rodríguez O, Cortada A, Rodríguez J, Santo B. Leche fermentada simbiótica con sirope prebiótico cubano. *Cienc Tecnol Alim* 2017; 27(3):21-6.
12. Rodríguez O, Pérez E, Martínez D, Fernández JM, Pavón MC, Jiménez L. Evaluación de la estabilidad de prebióticos durante el proceso de elaboración y conservación de una leche fermentada simbiótica. *Cienc Tecnol Aliment* 2019; 29(2):48-52.
13. Qu L, Ren J, Huang L, Pang B, Liu X, Liu X, Shan Y. Anti-diabetic effects of *Lactobacillus casei* fermented yogurt through reshaping gut microbiota structure in Type 2 Diabetic rats. *J Agric Food Chem* 2018; 66(48):12696-705.
14. Álvarez C, Cavero I, Martínez V, Sotos M, Ruiz JR, Gil A. Effects of milk and dairy product consumption on Type 2 Diabetes: Overview of systematic reviews and meta-analyses. *Adv Nutr* 2019; 10(2):154-163.
15. Guo J, Givens DI, Astrup A, Bakker SJL, Goossens GH, Kratz M, Soedamah-Muthu SS. The Impact of dairy products in the development of Type 2 Diabetes. *Adv Nutr* 2019; 10(6):1066-75.

16. Ban Q, Cheng J, Sun X, Jiang Y, Zhao S, Song X, Guo M. Effects of a synbiotic yogurt using monk fruit extract as sweetener on glucose regulation and gut microbiota in rats with type 2 diabetes mellitus. *J Dairy Sci* 2020; 103(4):2956-68.
17. NC TS 457. Leches Fermentadas. Especificaciones. Cuba; 2006.
18. Duarte C. Modelo de evaluación de la calidad sensorial para la industria alimentaria cubana (tesis doctoral). La Habana: Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos; 2017.
19. NC 585. Contaminantes microbiológicos en alimentos - Requisitos sanitarios. Cuba; 2017.
20. NC ISO 11869. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico. Cuba; 2006.
21. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists International. Latimer GW Jr. Ed, Rockville, Maryland, USA: AOAC; 2016.
22. NC ISO 4832. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de los coliformes. Técnica de placa vertida. Cuba; 2013.
23. NC ISO 7889. Enumeración de microorganismos característicos y la viabilidad celular. Cuba; 2009.
24. NC: 1004. 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.
25. Suárez J E. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutr Hosp* 2015; 31(1):3-9.
26. Hernández HA, Coronel Rodríguez C, Monge Zamorano M, Quintana Herrera C. Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Pediatría Integral* 2015; 19(5):337-354.
27. Valdés Marbelis, M´Boumba Aniely, Suárez José Antonio. Evaluación de una leche fermentada batida con mezclas de cultivos probióticos. *Cienc Tecnol Aliment* 2018; 28(1):27-31.