

DESARROLLO DE UNA LECHE FERMENTADA A PARTIR DE LECHE SEMIDESCREMADA DE BÚFALA CON ADICIÓN DE CULTIVO DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

*Aniely M' Boumba** y *C. Iñiguez,*
Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria.
Carretera al Guatao, km 3½, C.P. 19 200, La Habana, Cuba
E-mail: carola@iia.edu.cu

RESUMEN

Se estudio la influencia de diferentes valores de inoculación del *Lactobacillus acidophilus* sobre el tiempo de incubación, desarrollo de acidez y valor del pH al inicio de la etapa de coagulación de una leche fermentada a partir de leche semidescremada de búfala con la adición de un 8 % de azúcar. Definidos los niveles de inoculación de cultivo, y aromatizante se efectuaron pruebas a escala piloto, al producto obtenido se le realizaron las determinaciones físico-químicas y microbiológicas establecidas y una prueba de aceptación masiva. La estimación de la durabilidad se realizó por el método gráfico para datos incompletos de fallo utilizando la distribución de Weibull. Los resultados evidencian la posibilidad de obtener un producto con adecuadas características composicionales, sensoriales y de calidad higiénico-sanitaria. El estudio de durabilidad define que la vida útil del producto envasado en potes de polipropileno de 200 mL de capacidad y conservado a 4 °C es de 15 días, durante los cuales mantuvo una viabilidad celular del orden de 10⁸ UFC/mL. El resultado de la prueba de aceptación masiva permite clasificar la leche fermentada entre "Me gusta mucho" y "Me gusta extremadamente".

Palabras clave: Leche fermentada, leche semidescremada de búfala, *Lactobacillus acidophilus*.

***Aniely M' Boumba Rodríguez:** *Ingeniera Química (ISPJAE, La Habana, 2005). Master en Ingeniería Alimentaria (ISPJAE, La Habana, 2009) Investigador Agregado. Directora de Lácteos del IIA. Sus principales líneas de trabajo son helados artesanales e industriales, productos fermentados a partir de leche y soya.*

ABSTRACT

Development of fermented milks from buffalo 's semi skimmilk and culture of *Lactobacillus acidophilus*

Pitching rate influence of industrial culture of *Lactobacillus acidophilus* on incubation time, acidity and pH of fermented milk from buffalo 's semi skim milk and 8 % of sugar, were studied. The best formula, with inoculation rate and emulsion, was used for producing batches of fermented milk at pilot scale to conduct physicochemical and microbiological analysis, and a sensory acceptance test. Shelf life was determined through the graphic method for incomplete failure data using Weibull's distribution. It was concluded that the product showed good physico-chemical, sensory and microbiological characteristics. Shelf life at 4 °C was 15 days during which it maintains a cellular viability of 10⁸ UFC/g. In the mass acceptance test this fermented milk rated within the "I like very much" and "I like extremely intervals"

Keywords: Fermented milk, buffalo 's semi skim milk, *Lactobacillus acidophilus*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el volumen de producción de leches fermentadas elaboradas con una biota que contiene bacterias de origen intestinal, ha mantenido un ascenso constante debido fundamentalmente a sus propiedades nutricionales y biológicas que aportan beneficios para el organismo (1-3). Estas nuevas leches fermentadas consideradas alimentos probióticos son definidas como un "suplemento alimenticio microbiano vivo que afecta de forma ventajosa al animal huésped, mejorando su equilibrio microbiano intestinal" (1).

Uno de los microorganismos con características probióticas más utilizados es el *Lactobacillus acidophilus*, al que se le atribuyen efectos beneficiosos entre los que se encuentran estimulante del sistema inmunológico, efecto anticancerígeno y detoxificador, disminución de los niveles de colesterol en sangre con la consecuente prevención de padecer enfermedades cardiovasculares que ello lleva implícito, así como la regulación de la flora intestinal, al combatir microorganismos nocivos que reduen su actividad a partir de las bacterias beneficiosas para el organismo. Además de lo anteriormente señalado, el consumo de estas leches fermentadas probióticas regenera la flora intestinal deteriorada como resultado de un tratamiento por antibióticos, o como consecuencia de la edad (3).

Considerando los beneficios anteriormente señalados y con el propósito de lograr una industrialización más completa de la leche de búfala, el presente trabajo tiene como objetivo, el desarrollo de una leche fermentada aromatizada a partir de leche semidescremada de búfala con adición de cultivo de *Lactobacillus acidophilus* determinando sus características composicionales, sensoriales, de calidad higiénico sanitarias, de viabilidad celular así como la durabilidad del producto desarrollado envasado en potes de polipropileno de 200 mL de capacidad y conservado a 4 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se empleo leche semidescremada de búfala con adecuadas características composicionales, cultivo de *Lactobacillus acidophilus*, azúcar refinado adicionada en un 8 % y emulsión de naranja.

Considerando la capacidad instalada para la preparación de cultivos de las plantas procesadoras, fueron ensayados valores de inoculación del cultivo industrial entre 2,5 - 4,5 %, con el objetivo de evaluar mediante el tiempo de incubación, el desarrollo de la acidez, el valor del pH (4) al inicio de la etapa de coagulación, así como la acidez, pH textura y grado de filantez del producto terminado el comportamiento del *Lactobacillus acidophilus*.

En lo referente a la temperatura de inoculación e incubación, tomando en cuenta que la temperatura óptima de desarrollo de este microorganismo resulta 45 °C (1) no fue necesario efectuar cambios en el valor de este parámetro tecnológico durante el proceso de producción de la leche fermentada.

El análisis sensorial de la característica textura, fue realizado por 8 jueces entrenados en la cata de leches fermentadas a partir de leche de búfala las muestras fueron evaluadas entre 8 - 10 °C, utilizándose para esta evaluación el Procedimiento Analítico para el Control de Calidad Sensorial de leches fermentadas (5). Para la valoración del grado de filantez, se utilizó una escala evaluativa de 5 puntos donde 5 equivalio a poco filante y 1 a excesivamente filante. Para estas pruebas la leche fermentada fue agitada lentamente con una cucharilla hasta 10 vueltas, levantando la cucharilla y observando como cae el producto. La evaluación se completa con la sensación al paladar al probar el producto.

Una vez definido el valor de inoculación se procedió a determinar mediante la prueba de Friedman (6) con la participación de 8 evaluadores entrenados, el nivel del aromatizante el que resultó de 0,30 % de emulsión de naranja.

Posteriormente se efectuaron 4 corridas a nivel piloto de la leche fermentada aromatizada. A las 24 horas, tiempo al cual se considera a termino, se evaluaron el desarrollo de acidez total y el valor del pH, el contenido en materia grasa, proteínica, sólidos totales y cenizas (4). Se efectuó además el conteo total de microorganismos coliformes, hongos filamentosos levaduras y células viables (7 - 9). La evaluación sensorial global por 8 evaluadores entrenados se llevó a cabo por el procedimiento vigente (5).

La calidad del producto durante la conservación fue determinada considerando criterios microbiológicos, sensoriales y de viabilidad celular. Adicionalmente se consideró la determinación de acidez. Aunque esta determinación no se tomará en cuenta para la definición de la vida útil de la leche fermentada puede servir de valiosa información sobre posibles alteraciones en alguna de las características de calidad del mismo.

Por tratarse de un producto perecedero se decidió efectuar las determinaciones de acidez y la evaluación sensorial diariamente. Las determinaciones de los indicadores microbiológicos considerados, se efectuaron cada 48 h y una vez aparecido algún rechazo diariamente hasta el fallo.

El panel encargado de la evaluación sensorial estuvo constituido por 8 evaluadores entrenados, cada uno de los cuales emitía un criterio basándose en términos de acepto o rechazo. La muestra se consideró rechazada siempre que se alcanzó en el dictamen el número mínimo significativo de juicios fallo (muestras rechazadas) para $\alpha = 0,1$ dada por una distribución binomial $p < 0,1$ (10).

El número de muestras para los parámetros microbiológicos y de viabilidad celular son los considerados en la Norma Cubana correspondiente (11). Los lotes de producto se consideraron rechazados siempre que se alcanzó en el dictamen el número mínimo significativo de juicios fallo (conteo de los indicadores microbiológicos considerados y de viabilidad celular fuera de los límites máximos establecidos en cada uno de ellos) (11, 12).

Para la estimación de la durabilidad se asumió que el tiempo de vida útil del producto se distribuye probabilísticamente de acuerdo a la Ley de Weibull. Para su ajuste fue utilizada la técnica de estimación de máxima verosimilitud (técnica de riesgo) para datos incompletos de fallo (10).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tabla 1 se presentan los resultados del tiempo de incubación, acidez de valoración y valor del pH de las leches fermentadas al inicio de la etapa de coagulación, a los niveles de inóculo ensayados. Si se comparan los resultados de los tiempos de incubación con el

establecido como normal en la industria láctea para leches fermentadas, de aproximadamente 2,30 h, este resulta elevado para el valor de inoculación del 2,5 %, lo que representa un inconveniente para su aplicación al nivel industrial, debido al mayor consumo de energía y a la extensión del proceso productivo que de ello se deriva. Los valores de índice de acidez y valor del pH se consideran adecuados para esta etapa.

Los resultados a las 24 h de producidos de la acidez, pH, la evaluación sensorial de la textura y el grado de filantez se informan en la Tabla 2. La acidez final resultó deprimida a niveles de inoculación del 2,5 %. Los niveles de acidez desarrollados a valores de inoculación de 3,5 y 4,5 % cumplimentan las especificaciones que para este indicador de calidad se establecen en la Norma Cubana correspondiente (11).

Los valores del pH o acidez activa, se encuentran en todos los productos dentro de los normalmente establecidos para otras leches fermentadas. (12, 13).

Las puntuaciones alcanzadas en la evaluación sensorial de la textura permiten solo un criterio evaluativo entre aceptable y buena al valor más bajo de inoculación. De forma general los evaluadores detectaron cierta debilidad en el coágulo que influyó decisivamente en las bajas puntuaciones por ellos otorgadas.

Respecto a la filantez, las puntuaciones al nivel inferior y medio de inoculación resultan muy cercanas a 3, equivalente al criterio de filante, al valor del 4,5 % de inoculación la puntuación otorgada enmarca esta propiedad entre muy filante a excesivamente filante, como probable derivación de que este valor de inoculación se corresponde con un exceso de cultivo, lo que provoca una producción significativa de sustancias mucilaginosas. El análisis de los resultados obtenidos permite concluir que el valor de inoculación más adecuado es el del 3,5 %

Tabla 1 . Tiempo de incubación acidez y pH al inicio de la coagulación utilizando diferentes proporciones de inóculo

	Cultivo de <i>Lactobacillus acidophilus</i>		
	% de inóculo		
	2,5	3,5	4,5
Tiempo (min.)	180 – 195	130 -145	130 – 140
Acidez (%)	0,55 – 0,57	0,60 – 0,65	0,62 – 0,66
PH	5,2 – 5,3	5,2 – 5,1	5,1 – 5,0

Tabla 2. Acidez total, pH , grado de filantez de la leche fermentada aromatizada a las 24 horas de producida

Cultivo de BIFIGUR (% de inoculación)	% de acidez (ácido láctico)	Valor del pH	Filantez (puntos)	Textura (puntos)
2,5	0,76 – 0,78	4,2 – 4,3	2,6 – 2,7	3,7 – 3,9
3,5	0,90 – 0,94	4,3	2,8 – 2,9	4,6 – 4,7
4,5	0,92 – 0,96	4,2 – 4,1	4,3 – 4,6	4,4 – 4,6

La Tabla 3 muestra la composición en macrocomponentes, algunos indicadores físicos así como la evaluación microbiológica y sensorial del producto obtenido. La composición en macrocomponentes se corresponde con la proporción de leche de búfala presente en la formulación final, de la leche fermentada. El desarrollo de acidez y el valor del pH, resultan coincidentes con los obtenidos en la etapa de definición del valor de inoculación

Los conteos en todos los indicadores microbiológicos considerados avalan la adecuada calidad higiénico sanitaria del producto desarrollado. El conteo en células viables superior al mínimo terapéutico permite este destino del producto.

La puntuación total alcanzada en la evaluación sensorial, permite una clasificación de excelente al obtenerse puntuaciones entre 19,1 - 20.

Durante la conservación del producto los conteos de los parámetros microbiológicos considerados: conteo total de microorganismos coliformes, hongos y levaduras, no sustentaron el rechazo de los lotes en estudio al resultar inferiores al máximo establecido en la Norma Cubana correspondiente (1, 13) y que resultaron en < 102 UFC/mL. El conteo en células viables para el microorganismo se mantuvo en el orden de 10⁸ UFC/mL (superior al mínimo terapéutico establecido) (12) lo que demuestra que el *Lactobacillus acidophilus* aporta sus propiedades dietoterapéuticas con la ventaja que ello presupone. Las variaciones en el índice de acidez y valor del pH, se encuentran dentro

Tabla 3. Composición química características físicas, microbiológicas y evaluación sensorial de las leche fermentada aromatizada a partir de cultivo de *Lactobacillus acidophilus*

Componente		Media ± IC
Leche fermentada aromatizada		
Materia proteínica	(m/m)	4,34 ± 0,29
Materia grasa	(m/m)	1,40 ± 0,26
Hidratos de carbono	(m/m)	113,04 ± 0,24
Cenizas	(m/m)	0,63 ± 0,02
Sólidos totales	(m/m)	19,41 ± 0,0,15
Valor calórico	(kcal/100 g)	342
Indicadores físicos		
Índice de acidez	(m/m)	0,91 ± 0,02
Valor del pH		
Indicadores microbiológicos		
Coliformes	UFC/g	<10
Hongos filamentosos	UFC/g	40
Levaduras viables	UFC/g	20
Células viables	UFC/g	2,1 x 10 ⁸
Evaluación sensorial (Puntos)		19,6
IC Límite de confianza de la media p<0,05		

de límites muy estrechos y al final del período de durabilidad se consideran valores normales. No obstante, se comprobó que la acidez se incrementó ligeramente hasta los 9 días de almacenamiento, a partir de ese período se alcanzó cierta estabilización que se corresponde con la fase estacionaria de la característica curva de acidificación de las bacterias ácido lácticas y en las que se mantienen en un número casi constante.

En la medida que transcurre el estudio de durabilidad los evaluadores comienzan a detectar alteraciones en las características sensoriales de las leche fermentadas relacionadas con la detección marcada de un olor y sabor a producto "envejecido", no característico, lo que determinó el rechazo de los lotes y la conclusión del estudio de durabilidad.

El estudio de durabilidad efectuado permite definir considerando un 5 % de unidades deterioradas, que la vida útil de la leche fermentada aromatizada a partir de leche semidescremada de búfala con adición de cultivo de *Lactobacillus acidophilus* resulta de 15 días a 4 °C, Durante este período las células mantienen la viabilidad por encima del mínimo terapéutico establecido de 10^7 UFC/g, por lo que se considera un alimento probiótico. (1, 12).

Los resultados de la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov Smirnov, de los tiempos de vida útil a la distribución asumida indican se puede afirmar que para

el nivel de significación seleccionado (0,05) los tiempos de fallo pueden explicarse mediante la distribución de Weibull, confirmándose el estimado de durabilidad obtenido.

Los resultados alcanzados en la prueba de aceptación masiva confirman la muy buena aceptación de las leches fermentadas el presentar una clasificación entre me gusta mucho y me gusta extremadamente.

CONCLUSIONES

Quedó definida la posibilidad de obtener una leche fermentada aromatizada a partir de leche semidescremada de búfala por adición de un 3,5 % de cultivo de *Lactobacillus acidophilus* 0,30 % de emulsión de naranja y 8 % de azúcar, con adecuadas características composicionales, físicas sensoriales y de calidad higiénico sanitaria. La vida útil del producto envasado en potes de polipropileno de 200 mL de capacidad y conservado a 4 °C es de 15 días. La leche fermentada obtenida mantuvo durante el período de durabilidad una viabilidad celular de 108 UFC/g por lo que se considera un alimento probiótico. En la prueba de aceptación masiva la leche fermentada desarrollada clasifica entre me gusta mucho y me gusta extremadamente.

REFERENCIAS

1. Cota, C y Herrera A. Alimentaria (320): 57 -64. 2001
2. Castro A. Uso de probióticos en productos lácteos para el consumo humano VII Congreso de la Leche. La Habana. 2000
3. Iñiguez, C, Cardoso, F y Nuñez de Villavicencio M. Cien Tecnol. Alimen., 65 (1): 37 -40. 1998
4. AOAC. Official Methods of Analysis. William Horowitz. Ed 15. Washington DC 1990.
5. Zamora, E. Procedimiento Analítico para la Evaluación Sensorial en la Industria Láctea. La Habana 2002.
6. ISO 8587. Sensory analysis. Methodology Ranking. 1988.
7. Cuba. NC ISO. 4832. Microbiología de los alimentos para el consumo humano y animal. Técnica de enumeración de coliformes. Técnica de la placa vertida a 30 °C. 2002.
8. Cuba. NC ISO. 7954. Microbiología de los alimentos para el consumo humano y animal. Técnica de enumeración de levaduras y mohos. Técnica de la placa vertida a 25 °C. 2002.
9. García H, Paz, T, Tejedor R y Rodríguez, O. Alimentaria (359): 54 - 56 2004
10. Nelson W. Applied data time a analysis, Jhon Willey and Sons New York 1982
11. Cuba. NC. Contaminantes Microbiológicos. Requisitos Generales. 2011
12. FAO Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del CODEX ALIMENTARIUS Informe de la 8ta Reunión del Comité del CODEX, sobre Leche y Productos Lácteos. Ginebra. 2008.
13. NC 457: 2006 Leches fermentadas. Especificaciones