

## **EFFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO EN LA ELABORACIÓN DE LECHE DESLACTOSADA FERMENTADA CON UN CULTIVO MIXTO PROBIÓTICO**

*Claudio E. Sánchez-Jáuregui<sup>1</sup>, Aldo Hernández-Monzón<sup>2</sup> y René Tejedor-Arias<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del Azuay. Av. 24 de mayo  
7-77 y Hernán Malo. Cuenca, Ecuador.*

<sup>2</sup>*Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba.*

*E-mail: csanchez@uazuay.edu.ec*

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros de tratamiento térmico de la leche y de hidrólisis de la lactosa con lactasa comercial Maxilact Ha-Lactasa 5200 para la elaboración de leche deslactosada fermentada con un cultivo mixto probiótico. Se evaluaron dos sistemas de pasteurización, el primero a 85 °C por 30 min y el segundo a 90 °C por 5 min, seguido por hidrólisis bajo condiciones experimentales de 30, 40 y 50 °C en 0,5; 1 y 2 h y con una dosis de enzima lactasa de 1, 2 y 3 mL/L.

Se determinó que el tratamiento más eficiente fue el primero, bajo condiciones de hidrólisis de 1 mL/L, en 0,5 h y 38,5 °C, alcanzando un grado de hidrólisis del 95 % y una reducción del proceso fermentativo de 62 %, con respecto a los procesos tradicionales de leches fermentadas. La leche deslactosada fermentada con el cultivo mixto probiótico mediante este proceso alcanzó una evaluación sensorial de excelente.

**Palabras clave:** tratamiento térmico, hidrólisis de lactosa, leche deslactosada fermentada, probiótico.

### **ABSTRACT**

**Effect of heat treatment on the making of deslactosed milk fermented with a probiotic mix culture**

The objective of this paper was to determine the heat treatment parameters of milk and hydrolysis of lactose with commercial lactase Maxilact Ha-Lactasa 5200 for the making of deslactosed fermented milk. Two pasteurization systems were evaluated, the first at 85 °C for 30 min and the second at 90 °C for 5 min, followed by hydrolysis under experimental conditions of 30, 40 and 50 °C in 0.5, 1 and 2 h and at a dose of 1, 2 and 3 mL/L. It was determined that the most efficient treatment was the first, under hydrolysis conditions of 1 mL/L, in 0.5 h and 38.5 °C, reaching a hydrolysis degree of 95 % and a reduction of the fermentation process of 62 %, with respect to the traditional procedures of fermented milks. The deslactosed milk fermented with a probiotic mix culture obtained by this process achieved excellent sensory evaluation.

**Keywords:** heat treatment, lactose hydrolysis, fermented deslactosed milk, probiotic.

### **INTRODUCCIÓN**

Los procesos de tratamientos térmicos se han modificado de tal forma que los mismos sean lo menos agresivos para alterar en lo mínimo a los macros y microcomponentes de la leche. Actualmente se trabaja en procesos de uperización a 121 °C por menos de 2 s, los cuales mejoran la calidad microbiana dando mayor seguridad al consumidor, pero todo beneficio trae consigo cambios indeseables. Este tratamiento resulta muy

---

*\*Claudio E. Sánchez Jáuregui: Ingeniero en Alimentos, ostenta la categoría docente de Profesor Titular y Máster en Administración de Empresas. Es docente a tiempo completo y Director de Proyectos de UDALAB en la Carrera de Ingeniería de Alimentos de la Universidad del Azuay, tiene vasta experiencia docente tanto en pre grado como post grado en el campo de Ciencia y Tecnología de la Leche, Tecnología de bebidas, Biotecnología y Biomolecular aplicado al ADN recombinante en bacterias lácticas, Bioestadística, Nutrición, Gerencia de plantas y diseño de equipos.*

exitoso en la industria de las leches fermentadas por el cambio o desnaturalización de las proteínas, tanto séricas como la caseína y sus grupos, dando un mayor efecto de viscosidad, pero no se podría destinar este producto para ser sometido a hidrólisis como se explica por la solubilidad del ion calcio que bloquea la actividad enzimática de la lactasa.

Por otra parte, ocurren cambios en el ciclo de estimulación e inhibición de las bacterias ácido lácticas (BAL). El comportamiento de la estimulación e inhibición en respuesta a los diferentes tratamientos térmicos, puede relacionarse con la liberación de compuestos nitrogenados desnaturalizados y las interacciones de los grupos sulfidrilos (1), que inciden notablemente en el tiempo de coagulación.

Por lo explicado (2) sostiene que los tratamientos a los que es sometida la leche para la elaboración de productos fermentados insolubilizan al ion calcio presente en el caseinato de calcio en estado soluble, convirtiéndolo en un inhibidor de la actividad enzimática de la  $\alpha$ -galactosidasa (3, 4). Como lo ha señalado (5), las informaciones disponibles sobre leches fermentadas obtenidas con niveles reducidos de lactosa por hidrólisis enzimática son escasas. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los parámetros de tratamiento térmico de la leche y de hidrólisis de la lactosa con lactasa comercial para la elaboración de leche deslactosada fermentada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de experimentación se llevó a cabo en los laboratorios certificados de química, microbiología, biotecnología, biomolecular y la planta piloto de lácteos de la Escuela de Ingeniería en Alimentos de la Universidad del Azuay (Cuenca-Ecuador). Las materias primas para la experimentación fueron leche cruda de Tutupali Alto del cantón Cuenca, a la que se realizaron los análisis de control de calidad. Para la hidrólisis se utilizó la enzima lactasa Maxilact Ha-Lactasa 5200 (6), citrato de sodio grado alimentario e inulina (Granone), carragenato (Danisco) y para la fermentación de la leche se utilizó la mezcla de cepas probióticas compuesta por *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus rhamnosus* (7), Los análisis microbiológicos en leche cruda y leche fermentada se realizaron según las normas de referencia (8, 9).

Para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos de la leche se aplicaron dos procedimientos: Proceso 1 (85 °C por 30 min) y Proceso 2 (90 °C por 5 min). Las muestras de leche pasteurizadas fueron sometidas al proceso de hidrólisis, según el diseño experimental de un plan factorial de 3<sup>3</sup> mediante el programa Statgraphics ver. XV (Statgraphics Centurion, EE.UU.). Las variables independientes fueron la dosis de lactasa (1, 2 y 3 mL/L de leche), el tiempo de reacción (0,5; 1,25 y 2,0 h) y la temperatura de reacción (30, 40 y 50 °C) y como variable dependiente el grado de hidrólisis de la lactosa. Para cuantificar el contenido de lactosa se tomó como referencia a (10) y para determinar el punto de crioscopia se utilizó un crioscopio (FunkeGerber, modelo Cryostar II) previamente calibrado; cada muestra se analizó por triplicado. El grado de hidrólisis de la lactosa se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{Hidrolisis Alcanzada} = 350,77 * \left( \frac{\text{Crioscopia Final}}{\text{Crioscopia Inicial}} \right) - 0,00285$$

Para la fermentación de la leche deslactosada con los parámetros obtenidos como óptimos se tomaron 300 mL de leche, se enfriaron a  $38,5 \pm 1$  °C, se inocularon con 3 % de cultivo y se incubaron a temperatura constante hasta alcanzar acidez de 60 °D, o valor de pH 5,1; posteriormente se sometieron a refrigeración y se conservaron a  $4 \pm 1$  °C. La selección de las mejores variantes de proceso de tratamiento térmico y deslactosado para la fermentación se basó en el tiempo de fermentación para alcanzar la acidez de 60 °D. La evaluación sensorial de la leche deslactosada fermentada obtenida con el mejor tratamiento se realizó con el método propuesto (11), se utilizó una escala de cuatro puntos (excelente 4, bueno 3, regular 2 y malo 1) con 30 cataadores (personal de la planta de productos lácteos de la UDA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 presenta los resultados del plan experimental correspondientes a la hidrólisis de la lactosa para las diferentes condiciones de tratamiento térmico de la leche y de deslactosado. Como resultado del análisis estadístico para el tratamiento del Proceso 1 según diagrama de Pareto (Fig. 1) se obtuvo que las variables significativas al 95 % de confiabilidad fueron

la temperatura en su forma lineal y cuadrática y la dosis de enzima cuadrática. El modelo correspondiente fue el siguiente:  $\text{Hidrólisis}_{85} = -135,156 - 27,0511D_1 + 12,426T_r + 6,76278D_1^2 - 0,161289T_r^2$

Donde:  $D_1$  - Dosis de lactasa, mL/L;  $T_r$  - Temperatura de reacción, °C;  $R^2 = 62,53 \%$ ; Durbin-Watson = 1,69385 ( $P=0,199$ ).

En base a este análisis se obtuvo el gráfico de superficie de respuesta (Fig. 2), donde aparecen los valores óptimos de dosis de lactasa de 1,0 mL/L (valor que se encuentra por debajo 3,0 a 5,0 mL/L reportado por el fabricante) y la temperatura de 38,5 C (próximo a 37 °C reportado como óptimo por la marca comercial (6)). Este resultado tiene un efecto beneficioso en la producción industrial por el posible ahorro de la enzima.

**Tabla 1. Grado de hidrólisis de la lactosa para diferentes tratamientos térmicos y condiciones de reacción**

Dosis de lactasa (mL/L de leche)	Tiempo de reacción (h)	Temperatura de reacción (°C)	Pasteurización	
			85 °C_30 min (% hidrólisis)	90 °C_ 5 min (% hidrólisis)
1	0,5	30	71,43	64,77
1	1,25	30	83,33	52,63
1	2	30	75,76	57,87
2	0,5	30	47,44	56,43
2	1,25	30	70,42	55,8
2	2	30	69,25	61,73
3	0,5	30	66,49	63,29
3	1,25	30	75,53	65,15
3	2	30	69,64	60,98
1	0,5	40	83,33	85,62
1	1,25	40	95,06	73,53
1	2	40	96,53	84,18
2	0,5	40	79,21	79,87
2	1,25	40	83,89	84,18
2	2	40	72,25	68,31
3	0,5	40	73,31	78,37
3	1,25	40	73,75	69,25
3	2	40	74,18	63,29
1	0,5	50	55,56	51,02
1	1,25	50	60,53	57,08
1	2	50	62,5	52,08
2	0,5	50	56,82	58,14
2	1,25	50	53,76	52,08
2	2	50	61,12	52,63
3	0,5	50	68,49	60,24
3	1,25	50	60,53	58,55
3	2	50	64,1	62,5

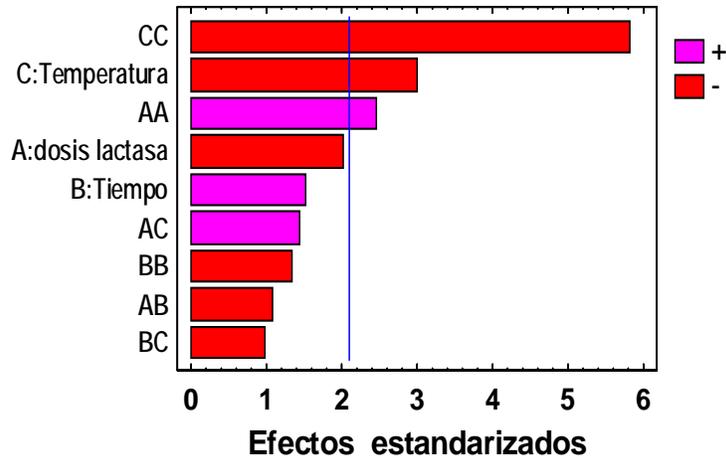


Fig. 1. Diagrama de Pareto para los efectos estandarizados de la hidrólisis de la lactosa con el tratamiento de la leche a 85 °C por 30 min.

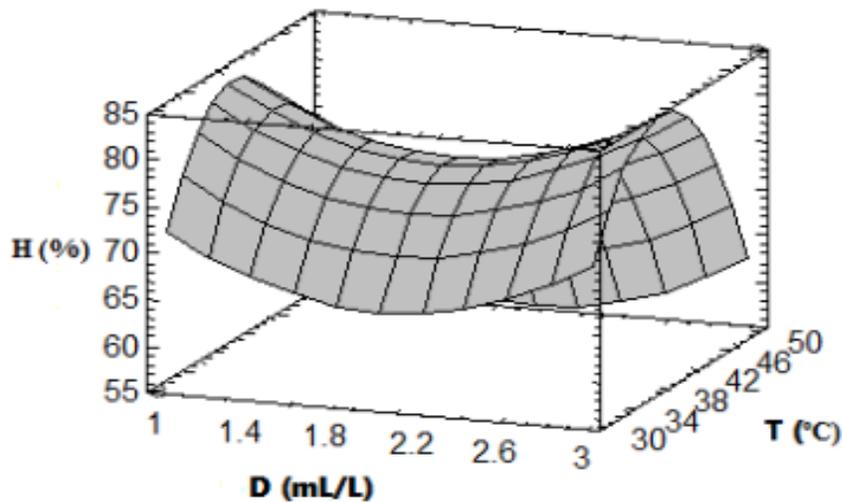


Fig. 2. Superficie de respuesta estimada del diseño experimental.

Como la variable tiempo de reacción no fue significativa puede seleccionarse en el intervalo experimental atendiendo a la práctica industrial y aspectos económicos, por lo que se estableció en 0,5 h.

Para el Proceso 2 los resultados del procesamiento estadístico aparecen en el gráfico de Pareto (Fig. 3), solo fue significativa la variable temperatura de reacción en su forma cuadrática. La Tabla 2 presenta los parámetros definidos como resultado del análisis experimental para realizar una comparación de la hidrólisis de la lactosa entre tratamientos térmicos.

Los resultados del análisis comparativo de la hidrólisis de la lactosa aparecen en la Fig. 4, como se observa, el Proceso 1 fue mucho más eficiente por el valor de hidrólisis alcanzado, válido para la elaboración de una leche deslactosada fermentada. Durante la fermentación (Fig. 5) no se evidenció la fase de latencia del cultivo probiótico mixto, por lo que la velocidad de producción de ácido se mantuvo prácticamente constante, alcanzando los 60 °D en un tiempo de 1,5 h; este comportamiento puede justificarse al considerar que el tratamiento no causó inhibición de la actividad del cultivo, sino un proceso de estimulación como ha sido explicado (1, 12, 13), al evaluar los ciclos de inhibición y estimulación en cultivos de yogur. El resultado del Proceso 2 coincide con lo señalado anteriormente (3).

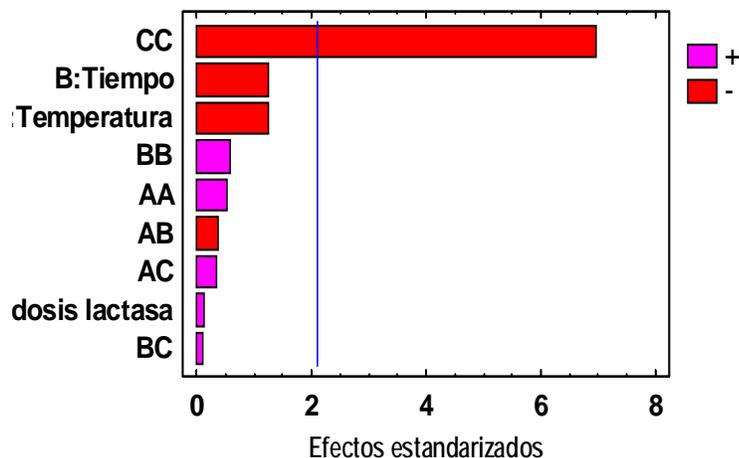


Fig. 3. Diagrama de Pareto para los efectos estandarizados de la hidrólisis para el Proceso 2.

Tabla 2. Procesos para hidrólisis de lactosa a partir del análisis estadístico

Parámetros de hidrólisis	Proceso 1	Proceso 2
Pasteurización (°C_min)	85_30	90_5
Dosis de lactasa (mL/L)	1	1
Tiempo (h)	0,5	0,5
Temperatura (°C)	38,5	40

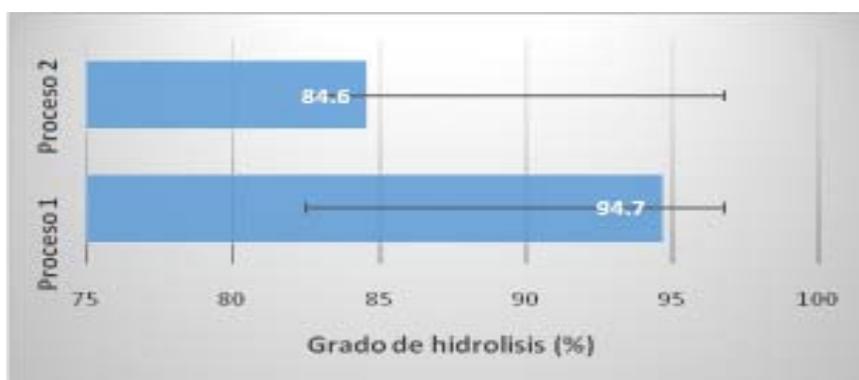


Fig. 4. Resultados de la hidrólisis de lactosa para los Procesos 1 y 2.

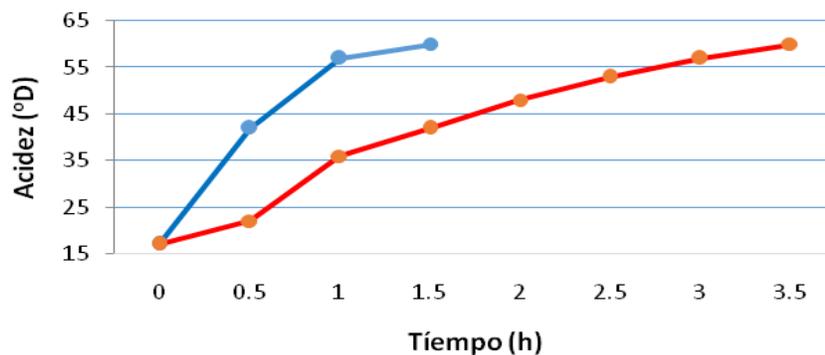


Fig. 5. Comportamiento de la fermentación para los Procesos 1 y 2.

A partir de los resultados de hidrólisis previa de la lactosa y del proceso fermentativo se concluyó que el Proceso 1 presenta características óptimas para la elaboración de una leche deslactosada fermentada, lo cual contribuirá al aumento de la productividad debido a una disminución de aproximadamente un 62 % del tiempo de fermentación con respecto al proceso tradicional que se desarrolla entre 3,5 a 4 h.

Los valores expuestos en la Tabla 3 corresponden a la evaluación sensorial de la leche deslactosada fermentada con el tratamiento propuesto. La calificación obtenida de cuatro puntos corresponde a una evaluación excelente.

## CONCLUSIONES

El tratamiento más eficiente para la pasteurización de la leche fue de 85 °C por 30 min, seguido de una hidrólisis de la lactosa con una dosis de Maxilact Ha-La 5200 de 1 mL/L, un tiempo de hidrólisis de 0,5 h y una temperatura de 38,5 °C, lográndose un grado de hidrólisis de la lactosa del 95 % y una disminución del tiempo de fermentación de 57 a 62 %. La leche deslactosada fermentada obtenida mediante este proceso obtuvo una evaluación sensorial de excelente.

**Tabla 3. Resultados de la evaluación sensorial a las 24 h de fermentación (30 catadores)**

Calidad del producto				
Excelente (4)	Bueno (3)	Regular (2)	Malo (1)	Promedio ponderado
21	8	1	0	4,0

## REFERENCIAS

1. Tamime, A. Y. y Robinson, R. K. *Tamime and Robinson's Yoghurt, Science and Technology*. 3 ed. Boca Raton, FL, CRC Press, 2007.
2. Boon, M. A.; Janssen, A.E.M. y Riet, K van 't. *Enzyme and Microbial Technology*. 26(2-4):271-281, 2000.
3. Kinney, A. J.; Cahoon, E. B. y Hitz, W. *Biochem. Soc. Transact.* 67(12):1166-1176, 2006.
4. Martins, A. R. Braz. *J. Food Technol.* 14(2):130-136, 2011.
5. Repelius, C. *Lactase: an optimum enzyme for low lactose*. Special Supplement Ingredient & Additives. Karnataka, Asia Pacific Industry., 2001.
6. Chr-Hansen. *Ha – Lactase*. Información del producto lactasa líquida. Chr-Hansen S.A. Denmark; 2009.
7. Sánchez, C.; Hernández, A. y Tejedor, R. *Cienc. Tecnol. Alim.* 25(3):9-18, 2015.
8. NTE INEN 09. *Características de leche cruda. Físico-químicas y microbiológicas*. Ecuador, 2012.
9. NTE INEN 2395. *Leches Acidófilas. Características físico-químicas y microbiológicas*. Ecuador, 2011
10. NOM NMX-F 219. *Leche y su composición. Determinación de lactosa en leche*. México, 2010.
11. Witting de Penna. *Una metodología actual para tecnología de alimentos*. Santiago de Chile, Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas, 2001.
12. Kolida, S. y Gibson, G. *Journal of Nutrition* 2:373-393, 2011.
13. Damin, M. *LWT-Food Sci. Technol.* 42:114-153, 2009.