

# LECHE FERMENTADA DE BÚFALA CON CULTIVOS PROBIÓTICOS

Yenisey Barrera\*, Emilio Real y Ovidio Ortega  
Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia  
Carretera al Guatao, km 3½, C.P. 19 200, La Habana, Cuba  
E-mail: yenisey@iiaa.edu.cu

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue definir la tecnología para elaborar una leche fermentada de búfala con buena aceptación y adecuada viabilidad. Se estableció el efecto del cultivo asociado de bacterias probióticas de *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus casei*, sobre la capacidad de acidificación, firmeza y características sensoriales de una leche fermentada de limón con una proporción de 1,5 % de cada cultivo. Se tomó como control el yogurt de búfala elaborado con 3 % del cultivo tradicional. Fue determinada la capacidad acidificante del cultivo mixto en la leche, la composición físico-química del producto, viabilidad, calidad microbiológica, así como su durabilidad a  $4 \pm 2$  °C. En cuanto a la capacidad acidificante del cultivo mixto no fueron encontradas diferencias entre la variante experimental y el control. La utilización del cultivo asociado permitió obtener una leche fermentada con buena aceptación y una firmeza similar al yogurt de búfala. La durabilidad del producto fue de 10 días, y se mantuvieron conteos de bacterias probióticas viables entre  $10^7$  y  $10^8$  UFC/g.

**Palabras clave:** leche de búfala, leche fermentada, bacteria probiótica, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, tecnología, durabilidad.

## ABSTRACT

### Fermented buffalo's milk with probiotic cultores

The objective of this work was to define the technology to elaborate fermented milk with good acceptance and adequate viability. It was established the effect of associated culture of *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus casei* about the acidification capacity, firmness and sensory characteristics of a fermented milk of lemon with a proportion of 1.5 % of both cultures. It was taken as control the buffalo yogurt elaborated with 3% of traditional culture. It was determined the acidification capacity of mixed culture in milk, physico-chemical composition of the product, viability, microbiological quality, as well as its shelf-life to  $4 \pm 2$  °C. As for acidification capacity of the mixed culture was not found differences between the experimental variant and the control. The use of the associated culture permitted to obtain fermented milk with good acceptance and firmness similar to buffalo yogurt. The durability of the product was 10 days, keeping counts of viable cells between  $10^7$  and  $10^8$  UFC/g.

**Key words:** fermented milk, probiotic bacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, technology, shelf-life.

## INTRODUCCIÓN

Las leches fermentadas con bacterias probióticas, además de su valor nutritivo derivado de su aporte en calcio y de proteínas de alto valor biológico procedentes de la leche, tienen otros efectos positivos para la salud como: mejora del equilibrio de la flora intestinal, regulación del metabolismo de lípidos, mejora del sistema inmunitario y protección frente a infecciones

intestinales y ciertos tipos de cáncer (1). Otros de los beneficios que aporta el consumo de estas leches son: el incremento de la retención de minerales, mayor proteólisis que permite la degradación favorable de las proteínas por los jugos gástricos, mejor tolerancia por individuos sensibles a la lactosa, así como la propiedad de los microorganismos presentes de implantarse y permanecer viables en el tracto intestinal. Además presentan un efecto anticolesterolémico, actividad antitumoral, producción de enzimas digestivas y vitaminas, fundamentalmente del complejo B (2). Algunas de las cepas probióticas más utilizadas son: *Bifidobacterium spp*, *L. acidophilus* y *L. casei* (3).

\*Yenisey Barrera Aldama: Licenciada en Ciencias Alimentarias, (IFAL, 2004). Trabaja en la Dirección de Leche en el grupo de Productos fermentados y quesos en la elaboración de leches fermentadas, cultivos probióticos y quesos.

Si consideramos los beneficios del consumo de leches fermentadas probióticas y con la finalidad de lograr una industrialización más completa de la leche de búfala, para diversificar el empleo de la misma, se definieron los objetivos de este trabajo; los cuales han sido definir la tecnología para desarrollar una leche fermentada de búfala con propiedades sensoriales y nutricionales satisfactorias, haciendo uso de los cultivos de *L. casei* y *L. acidophilus* y determinar su composición, calidad microbiológica, así como su durabilidad a  $4 \pm 2$  °C.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de la leche fermentada de búfala experimental (LFB), así como el control, se emplearon las materias primas siguientes: leche de búfala, azúcar refino, emulsión de limón (sabor), cultivos de yogurt y de *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* con acidez entre 0,90 y 1,00 % de ácido láctico y viabilidad en el orden de  $10^9$  UFC/g.

Las proporciones de las materias primas utilizadas se correspondieron con lo establecido para la elaboración de yogurt de búfala aromatizado al igual que el tamaño del inóculo total con lo descrito en esta norma, mientras que la proporción de los cultivos fue seleccionada para alcanzar una población inicial de *L. casei* + *L. acidophilus* en el orden de  $10^7$ - $10^8$  UFC/g; concentración a la cual estas bacterias tienen una eficiente actividad probiótica (2, 4, 5).

El procedimiento seguido en la preparación de la leche fermentada de búfala experimental, se fundamentó en el proceso tradicional, similar al descrito para el control, pero con la diferencia de que la fermentación se realizó a 37 °C (4).

En el estudio sobre la capacidad de acidificación, firmeza y la evaluación organoléptica se tomó como patrón de comparación al yogurt tradicional de búfala.

En la variante experimental se realizó la caracterización físico-química, la evaluación sensorial y de la firmeza, el análisis microbiológico, la viabilidad de las bacterias probióticas, así como la determinación de la durabilidad. Las evaluaciones fueron realizadas después de 24 h de conservación en frío cuando se consideró producto terminado.

La primera etapa del experimento consistió en establecer la capacidad de acidificación del cultivo asociado en la leche. Se siguió el mismo procedimiento de preparación hasta el momento de inoculación, a partir del cual, la mitad de las muestras fueron mantenidas a 37 °C y la otra a 45 °C durante 4 h, en ambos casos se determinó la acidez cada 1 h y a las 2,5 h.

Para caracterizar el producto se realizaron los siguientes análisis: sólidos totales (6), proteínas (7), grasas (8) y acidez (9).

Para definir la calidad microbiológica se llevaron a cabo: recuento de coliformes, hongos y levaduras (10,11). Los conteos de *L. acidophilus* y *L. casei* se realizaron según el método establecido en medio específico para *Lactobacillus* (12).

Las evaluaciones sensoriales fueron realizadas por 11 panelistas experimentados en la cata de leches fermentadas. Se empleó una escala de 20 puntos para la evaluación del aspecto, olor, sabor y textura según metodología (13).

Como indicador de la consistencia de la leche fermentada se determinó la firmeza. Las mediciones se realizaron mediante una prueba de penetración de un disco de 47 mm de diámetro, acoplado a un texturómetro Instron a la velocidad de 5 cm/min a temperatura de 12 a 14 °C.

La durabilidad de la leche fermentada conservada a  $4 \pm 2$  °C, se evaluó por el método de aceptación-rechazo al cual se le aplicó un diseño parcialmente escalonado y como criterio de rechazo la coincidencia del número de fallos de la evaluación sensorial, la microbiológica o la viabilidad de lactobacilos con el número mínimo de juicios fallos para  $\alpha = 0,01$  dado por una distribución binomial con  $p=0,1$ . La estimación de la durabilidad se realizó por el método de ploteo de riesgos para datos incompletos de fallos, para la cual se empleó la distribución de Weibull (14). Para la viabilidad se tomó como valor de rechazo un conteo total de *Lactobacillus* inferior a  $10^7$  UFC/g (5).

En el tratamiento estadístico se determinaron los estadígrafos comunes y se realizaron comparaciones entre dos valores medios. Este se realizó mediante el paquete de programas Statical Package of Social Science.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Fig. 1 refleja la variación de la acidez del cultivo mixto a 37 y 45 °C. A 37 °C el cultivo mixto manifestó un buen desarrollo de la acidez, alcanzando sobre las 3 h de fermentación ácido láctico un valor de 0,50 % de ácido láctico; acidez final de la operación de incubación a 37 °C. Este tiempo se encuentra en el rango del correspondiente al yogur tradicional de búfala (2,5 a 3 h) (4).

La Tabla 1 muestra la composición físico-química de la leche fermentada experimental. Los resultados obtenidos para estos componentes concuerdan con los establecidos en la norma para el yogur de búfala. La acidez se incrementó durante las primeras horas de conservación en frío, y llegó a alcanzar a las 24 h, el valor de 0,95 %; que se encuentra dentro del rango establecido en la norma. Posteriormente, en los días siguientes de conservación en frío, la acidez de la leche fermentada a baja temperatura varió muy poco (4).

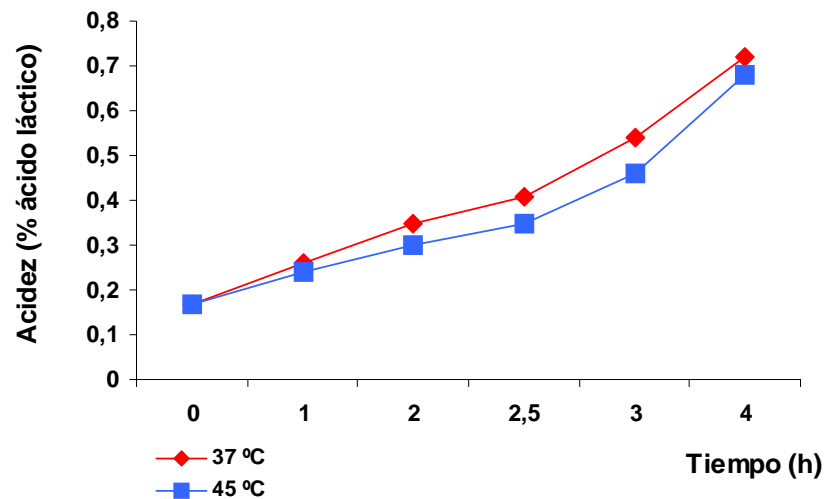


Fig. 1. Curvas de acidez del cultivo mixto.

Tabla 1. Composición físico-química de la leche fermentada de búfala

Indicadores (%)	Media	S
Proteínas	4,0	0,3
Grasas	6,0	0,5
Sólidos totales	24,0	1,7
Acidez	0,95	0,07

El control microbiológico demostró que las características higiénico-sanitarias fueron satisfactorias, ya que los conteos de coliformes, hongos y levaduras fueron menores de 10 UFC/g, cumpliendo con lo establecido en la norma cubana para yogur de búfala (4).

Uno de los principales objetivos de este trabajo consistió en la obtención de una población de *Lactobacillus* igual o superior a  $10^7$  UFC/g en la leche fermentada, concentración de bacterias que aporta una eficiente actividad probiótica en el alimento. Los resultados de viabilidad ascendieron a valores de  $10^8$  UFC/g ( $5,4 * 10^8$  UFC/g).

La Tabla 2 resume los resultados de la evaluación organoléptica y de la firmeza de la LFB. La variante experimental alcanzó una puntuación en la evaluación sensorial de 18,1, lo cual permite otorgarle una categoría de muy bueno. Como se puede observar en esta tabla, la evaluación del yogur control fue ligeramente superior,

pero sus diferencias con el experimental no fueron significativas. Con relación a la firmeza de la leche fermentada experimental, el valor obtenido no presentó diferencias con su correspondiente control.

La Tabla 3 muestra los parámetros  $\alpha$  y  $\beta$ , con los cuales se estimaron las frecuencias esperadas y sus diferencias con las observadas, por lo que se pudo afirmar que la distribución probabilística de los tiempos fallos para un nivel de significación de 0,05 puede ser descrita por la distribución de Weibull.

La Tabla 4 refleja la durabilidad hasta el percentil 10. Para el percentil 5 los valores de durabilidad se encuentran en el rango de 10,35 a 12,67 días, por lo que escogiendo el límite inferior, su durabilidad es de 10 días. Este tiempo es aceptable para leches fermentadas, el mismo es superior a los normados para el yogur de búfala (7 días), aunque inferiores al reportado por investigadores del mismo instituto para el yogur tradicional de búfala (13-14 días) (4,15).

**Tabla 2. Evaluación sensorial y firmeza del control y la variante experimental**

Indicadores estadísticos	Evaluación sensorial		Firmeza (g/cm <sup>2</sup> )	
	Control	Variante experimental	Control	Variante experimental
Media	18,7a	18,1a	643a	601a
S	0,9	0,9	43	39

Letras iguales en fila no difieren significativamente para  $\alpha=0,01$ .

**Tabla 3. Parámetros de la distribución de Weibull**

Parámetros	Valor	Límite Inferior	Límite Superior	Dmax	Dks
$\alpha$	14,49	13,37	15,72	0,119	0,565
$\beta$	12,62	9,25	15,85		

**Tabla 4. Durabilidad de la leche fermentada experimental**

Percentil	Valor	Límite inferior	Límite superior	Durabilidad (días)
01	10,07	8,56	11,84	10
05	11,45	10,35	12,67	
10	12,13	11,24	13,09	

Durante el estudio de durabilidad se manifestó el rechazo por la evaluación sensorial con antelación al microbiológico. Las razones fundamentales que provocaron el rechazo fueron: elevación de la acidez, modificaciones del sabor (sabor amargo) y disminución del sabor a limón. Solo al final de la conservación (después de 10-11 días) se rechazaron muestras por presencia de hongos superficiales. La concentración de las bacterias probióticas (viabilidad) disminuyó durante la conservación a  $10^7$  UFC/g, y se mantuvieron en este valor durante todo el período de conservación analizado y por tanto no fue causa de rechazo.

El costo estimado para la leche fermentada de limón, es similar a la de su respectivo control de yogurt de leche de búfala, ya que solo se diferencian en el tipo de cultivo empleado.

## CONCLUSIONES

La utilización del cultivo asociado de *L. casei* y *L. acidophilus* permite la obtención de una leche fermentada saborizada con buena calidad organoléptica y firmeza similar al yogurt de búfala. La durabilidad de esta leche fermentada envasada en potes de 200 mL y conservada a  $4 \pm 2$  °C, fue de 10 días. Durante el período de conservación, el valor de viabilidad se mantuvo en el orden de  $10^7$  a  $10^8$  UFC/g, lo que permite caracterizarla como una leche fermentada probiótica.

## REFERENCIAS

1. Rodríguez, A. *Cualidades del yogurt*. [en línea]. Consultado 10 diciembre 2004 en [www.monografias.com/trabajos5/dsalud.com/cabecerahtm](http://www.monografias.com/trabajos5/dsalud.com/cabecerahtm).
2. García, H.; Banguela, S.; Paz, M.; Pino, J.; González, J. y Falco, S. *Alimentaria*. (300): 55-59, 1999.
3. Rota, C. y Herrera, H. *Alimentaria* (320): 57-67, 2001.
4. NRIAL 6737-139: *Leche y sus derivados. Yogurt de leche de búfala. Especificaciones de calidad*. Cuba, 2000.
5. Kontula, P. *Finnish J. Dairy Sci.*, 54(1): 8-84, 1999.
6. NC 78-11-07. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de sólidos totales*, 1983.
7. NC 78-11-12. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de proteínas*, 1983.
8. NC 78-11-04. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de grasas*, 1983.
9. NC 78-11-01. *Leche y Productos Lácteos. Determinación de acidez*, 1983.
10. NC 76-04-03. *Productos Alimenticios. Métodos de ensayos microbiológicos. Determinación de microorganismos coniformes*, 1982.
11. NC 76-04-02. *Productos Alimenticios. Métodos de ensayos microbiológicos. Determinación de hongos filamentosos y levaduras viables*, 1982.
12. de Mann, J.; Rogosa, M. and Sharpe, M. E. *J. Applied Bacteriol.* 23: 130-135, 1987.
13. Torricella, R.; Zamora, E. y Pulido, H. *Procedimiento analítico para la evaluación sensorial de productos de la industria láctea*, Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, La Habana, 2002, 203-206 pp.
14. Cantillo, B. J. *Durabilidad de los Alimentos*, Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, La Habana, 1994, 31-40 pp.
15. Iñiguez, C. y Paz, T. *Alimentaria* (291): 73-75, 1998.