

Elaboración de una bebida láctea a base de lactosuero fermentado usando *Streptococcus salivarius ssp.*, *Thermophilus* y *Lactobacillus casei ssp. casei*

Elaboration of a dairy drink based on whey fermented using Streptococcus salivarius ssp., Thermophilus and Lactobacillus casei ssp. casei

Tirado A. Diego F.^{1*}, Granados C. Clemente¹, Acevedo C. Diofanor¹, Marulanda Mateo, De La Hoz Efraín²

¹Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería de Alimentos, Avenida el Consulado, Calle 30 No. 48-152. Cartagena, Bolívar-Colombia

²Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Económicas, Programa de Administración Industrial, Avenida el Consulado, Calle 30 No. 48-152. Cartagena, Bolívar-Colombia

Recibido 02 de Abril 2015; aceptado 10 de mayo 2015

RESUMEN

En este trabajo se elaboró una bebida láctea a base de lactosuero fermentada con Estreptococcus salivarius ssp. Thermophilus y Lactobacillus casei ssp. Casei. Para esto se evaluó fisicoquímicamente el lactosuero dulce. Se prepararon 3 lotes a concentraciones de sólidos solubles de 13, 17 y 21%. Las muestras se sometieron a análisis microbiológicos para demostrar la supervivencia de las cepas utilizadas, y además se determinó la ausencia de poblaciones patógenas. Se realizaron pruebas fisicoquímicas al producto final con el fin de mostrar la eficacia de los microorganismos durante el proceso de fermentación y comprobar los nutrientes de producto final frente al lactosuero inicial. Aumentaron los niveles de lactosa, sólidos solubles, proteína y densidad. Esta bebida láctea se puede catalogar como un producto descremado en las tres concentraciones. Es posible la elaboración de una bebida láctea fermentada teniendo como materia prima lactosuero, ya que este podría constituir un medio de cultivo apropiado.

Palabras clave: *Bebida láctea, Estreptococcus salivarius ssp, Lactobacillus casei ssp Casei, lactosuero, Thermophilus.*

ABSTRACT

In this paper a milky drink made from fermented whey with Streptococcus salivarius ssp thermophilus and Lactobacillus casei ssp casei was developed. For this sweet whey evaluated physicochemically. 3 batches of soluble solids concentrations of 13, 17 and 21 % were prepared. The samples were subjected to microbiological testing to demonstrate the survival of the strains used, and also the absence of pathogen populations was determined. The final product in order to show the effectiveness of the microorganisms during the fermentation process

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: dtiradoa@unicartagena.edu.co

and to check the final product nutrients from the initial whey physicochemical tests were performed. Increased levels of lactose are soluble solids, protein and density. This milk drink can be categorized as a low-fat product in the three concentrations. Is it possible the preparation of a fermented milk drink whey having as raw material, as this could be an appropriate culture medium.

Keywords: Drink milk, *Lactobacillus casei ssp casei*, *Streptococcus salivarius ssp*, *Thermophiles*, whey.

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento del suero de quesería o lactosuero, el subproducto más importante de la industria láctea, ha sido y sigue siendo objeto de numerosas investigaciones, debido a que existe la posibilidad de aprovechar su contenido en elementos de alto valor nutritivo (proteínas hidrosolubles, lactosa, vitaminas y sales minerales) en la síntesis de productos químicos, farmacéuticos así como para la industria alimentaria (Londoño *et al.*, 2008). Para la industria alimentaria, el lactosuero constituye una fuente económica de proteínas, que otorga múltiples propiedades de aplicación en una amplia gama de alimentos, debido a sus diversas capacidades funcionales. Los productos de suero mejoran la textura, realzan el sabor y color, presentan características de emulsificantes y estabilizantes, mejoran las propiedades de flujo, entre otras propiedades tecnofuncionales, lo que posibilita incrementar con éste, la calidad de muchos productos alimenticios (Acevedo *et al.*, 2015). Por tal motivo, progresivamente el suero se ha ido industrializando y utilizando en mayor volumen en la elaboración de productos para alimentación humana, además del tradicional uso en alimentación animal. Así, su uso en bebidas fermentadas, productos de panadería, repostería, dulces, además de productos químicos y farmacéuticos como ácido láctico, alcohol etílico, entre otros (Acevedo *et al.*, 2015).

La producción mundial de lactosuero que se genera en el mundo es más de 145 t/año (Parra y Campos, 2014). Según Lombana *et al.*, (2012), la producción de leche en Colombia, para el año 2006 fue de 6.024 millones de litros (su participación fue de un 10% del PIB, dentro del sector de alimentos (21% PIB), de los cuales, aproximadamente, un 18% (1.084 millones de litros) se destinó a la producción de quesos y un 9% (542 millones de litros) a leches fermentadas, lo que quiere decir que la producción nacional de suero de queso, corresponde a 921.672 millones de litros.

Según la Norma Técnica Colombiana (NTC) 805 de (2005), las leches fermentadas son un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche higienizada, o de productos obtenidos de la misma, por medio de la acción de microorganismos adecuados que producen la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento y con adición de otros ingredientes y aditivos permitidos o sin ellos. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables.

Considerables esfuerzos han sido realizados en el pasado para explorar nuevas alternativas para la utilización de lactosuero y reducción de la contaminación ambiental (Hannibal *et al.*, 2015).

Entre los productos de exitosa aceptación debido a sus bajos costos de producción, grado de calidad alimenticia y aceptable sabor, se encuentran las bebidas refrescantes (García-Mogollon *et al.*, 2015), bebidas fermentadas (Miranda *et al.*, 2007), y alcohólicas, proteína unicelular, biopelículas, producción de ácidos orgánicos, concentrados de proteínas, derivados de lactosa entre otros (Parra, 2009; Koutinas *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2009). En trabajos anteriores Miranda *et al.*, (2007) trabajaron en una bebida fermentada elaborada a partir del suero de queso en el Combinado Lácteo de Bayamo (Granma, Cuba). Por otro lado Londoño *et al.*, (2008) en su trabajo desarrollaron una bebida

fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*, a la cual se le evaluó la viabilidad del microorganismo, utilizando medios de cultivo selectivos, bajo condiciones anaeróbicas y, luego, se procedió a verificar su resistencia a los ácidos gástricos y sales biliares, simulando así, las condiciones del tracto gastrointestinal de los humanos. Conscientes del grave problema de contaminación que crea su vertido y dadas las actuales exigencias de conservación del medio ambiente, el objetivo de esta investigación fue elaborar una bebida láctea a base de lactosuero dulce fermentada con *Streptococcus Salivarius ssp Thermophilus* y *Lactobacillus Casei ssp Casei*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

El lactosuero fue derivado de la producción de queso costeño. Las cepas de bacterias ácido lácticas de *Streptococcus salivarius ssp Thermophilus* y *Lactobacillus casei ssp Casei* utilizadas en la fermentación durante la investigación fueron suministradas por la empresa CHR-HANSEN Colombia.

Pruebas fisicoquímicas

Se realizaron análisis de porcentaje de grasa por el método gerber, NTC 4722; densidad por el método de lacto densimetría; lactosa por el método de Lane y Eynon (AOAC 923.09, 920.183b); la proteína fue analizada por el método de Kjeldahl (AOAC 920.152); sólidos totales por espectrofotometría en el equipo MilkoScan FT 6000; sales minerales, (AOAC 942.05); se determinó el pH mediante el método 945.10/90 de la AOAC adaptado y acidez expresada en porcentaje de ácido láctico de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana (NTC) 399 (2002), utilizando una solución de NaOH al 0.1N, solución de fenolftaleína disuelta al 1% en alcohol amílico, que se basa en los métodos de la A.O.A.C. (2003). Los análisis se realizaron por triplicado al lactosuero y producto final.

Análisis microbiológico

Se realizó recuento de mesófilos aerobios según la NTC 4519 (2009), las muestras de lactosuero

fueron homogenizadas durante 30 seg, utilizando un agitador automático. Se tomaron 10ml de lactosuero y se mezcló con 90ml de agua peptonada estéril; ésta constituyó la primera dilución (10^{-1}). Consecutivamente se realizaron diluciones transfiriendo 1ml de la dilución de esta dilución a 9ml de agua peptonada estéril, hasta la dilución 10^{-8} . Una vez terminadas las diluciones, se colocaron 20 μ l de cada dilución en la superficie de una placa de agar para recuento en placa, luego se llevó a incubación durante 24h a 37°C. Luego se realizó un promedio de las colonias, y se ejecutó el cálculo para obtener el número de colonias bacterianas presentes por ml/lactosuero. La determinación de bacterias coliformes fecales y totales se realizó mediante la técnica del número más probable (NMP). Una vez obtenido la dilución 1×10^{-8} , se depositó 1ml de cada dilución en cada uno de los tres tubos, el cual contenía 10ml de caldo lactosado simple con tubo de Durham invertido. Estos se llevaron a incubación durante 24h/37°C, transcurrido este tiempo, se observaron los tubos que mostraron producción de gas, se escogió la dilución más alta en la que se observó la presencia de gas en los tres tubos y se tomó una asa de los tubos con gas para sembrar en una placa de agar MacConkey. Esta placa se incubó 24h a 37 °C y se determinó la presencia de colonias de bacterias coliformes (NTC 399, 2002).

Proceso de elaboración de la bebida

Se mezclaron los ingredientes (Lactosuero, leche en polvo descremada, azúcar) a diferentes concentraciones de sólidos solubles (SS) (13, 17 y 21%). La cantidad de lactosuero dulce permaneció constante. Las formulaciones utilizadas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1
Formulación utilizada para cada concentración

Ingredientes	13% SS	17% SS	21% SS
Lactosuero dulce	2000 ml	2000 ml	2000 ml
Leche en polvo descremada	135,8 g	215,8 g	295,8 g
Azúcar	122,37 g	214,24 g	323,5 g

Se homogenizó, y la mezcla fue sometida a pasteurización VAT o lenta, 63°C por un periodo de 30 min. Esto con el fin de eliminar flora microbiana contenida en el lactosuero. La mezcla se enfrió a 40 y 43°C. Se inoculó con los cultivos de *E. Salivarius ssp Thermophilus* y *L. Casei ssp Casei*. Estos fueron inoculados en la misma proporción para cada una de las concentraciones planteadas la cual corresponde a 0., g de cada cultivo iniciador. Esta cantidad corresponde a una concentración de 5×10^{-5} % p/v, con respecto a la cantidad de lactosuero

inicial. Las cantidades de cultivo utilizadas se deben a las recomendaciones del fabricante. La fermentación se realizó durante un promedio de 3 horas, a una temperatura entre 40 y 43°C. Para establecer un control de la fermentación parámetros como el pH y la acidez (expresada en ácido láctico), fueron medidos una vez cada 30 minutos, el proceso de fermentación se detuvo en el momento exacto en que el producto alcanza una acidez de 0,7% y el pH descendió hasta 5. Finalmente, y una vez alcanzada la acidez deseada, el proceso de fermentación se detuvo a través de la disminución de la temperatura utilizando los refrigeradores ubicados en la planta de alimentos de la Universidad de Cartagena sede Piedra de Bolívar.

Caracterización de la fermentación

Se registraron datos de pH y concentración de ácido láctico, con el fin de estudiar la dinámica de acidificación de la bebida inoculada con cultivos lácteos.

Análisis de datos

En la investigación, se manejó un diseño experimental totalmente aleatorio. Las determinaciones se efectuaron por triplicado y los resultados expresados como la media con su desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas fisicoquímicas

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos realizados al lactosuero y las bebidas lácteas fermentadas a diferentes concentraciones de sólidos solubles. Los resultados fisicoquímicos del lactosuero concuerdan a los obtenidos por Guerrero *et al.*, (2010) en su estudio de caracterización fisicoquímica del lactosuero en el valle de Tulancingo. Los resultados presentados en la Tabla 2 muestran como todas las diferentes formulaciones de las bebidas lácteas aumentaron el contenido de todos sus componentes después de la fermentación entre los cuales destacan el aumento

de la densidad, el contenido de proteína y los sólidos solubles.

Tabla 2
Pruebas fisicoquímicas realizadas a bebidas lácteas

Parámetro	Lactosuero	13 % SS	17 % SS	21 % SS
Grasa (%)	0,00±0,00	0,10±0,01	0,10±0,00	0,10±0,00
Densidad (g/ml)	1,02±0,02	1,072±0,06	1,08±0,07	1,08±0,08
Lactosa (%)	3,69±0,045	10,72±0,14	13,08±0,19	14,80±0,83
Proteína (%)	2,29±0,09	7,19±0,09	8,83±0,09	10,02±0,19
Sólidos Solubles (%)	6,28±0,12	19,48±0,73	23,92±0,36	27,14±0,28
Sales (%)	0,55±0,03	1,73±0,05	2,13±0,03	2,42±0,05
Acidez (% ácido láctico)	0,08±0,004	0,65±0,08	0,68±0,08	0,74±0,06
pH	6,50±0,06	4,46±0,03	4,6±0,04	4,59±0,06

Los resultados fisicoquímicos expuestos en este trabajo concuerdan con otros estudios en donde se elaboraron bebidas lácteas fermentadas de lactosuero fresco (Londoño *et al.*, 2008; Alava *et al.*, 2014).

Fermentación de la bebida

En la Figura 1 se muestra el desempeño de los microorganismos en la producción de ácido láctico durante la fermentación de la bebida láctea a base de lactosuero dulce. Estos datos fueron tomados en periodos de tiempo de 30 minutos cada uno. En la Figura 1 se puede apreciar el aumento del porcentaje de ácido láctico durante el proceso de fermentación de la bebida fermentada láctea a base de lactosuero dulce. Los resultados muestran que los niveles de ácido láctico se encuentran dentro de los rangos establecidos por la NTC 805 (2005), para ser considerado un producto fermentado. El aumento de ácido láctico presente en la bebida fermentada confirma el proceso de fermentación que usan las bacterias en donde usan la lactosa presente en el lactosuero para convertirla en ácido láctico (Gonzales, 2011). Según Cury *et al.*, (2014) este incremento demuestra que las bacterias ácido-lácticas inoculadas en el lactosuero durante el proceso de elaboración lograron crecer en este medio, gracias en parte a la composición de nutrientes de la materia prima inicial y el nivel de inóculo utilizado.

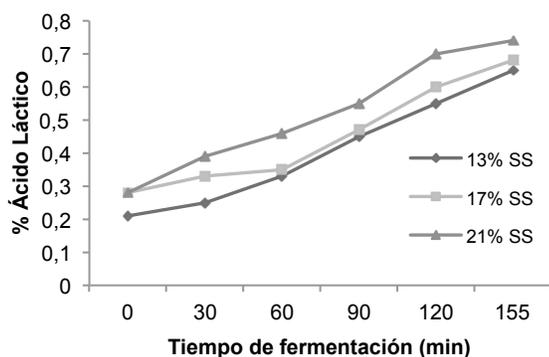


Figura 1. Porcentaje de ácido láctico durante el proceso de fermentación

En la Figura 2 se muestra el resultado obtenido del descenso del pH durante la fermentación de la

bebida láctea fermentada a base de lactosuero dulce. El pH es un buen indicador del estado general del producto, ya que tiene influencia en múltiples procesos de alteración y estabilidad en los alimentos, por esta razón, se puede afirmar que su descenso no favorece el crecimiento de bacterias patógenas (Carrillo y Reyes, 2013).

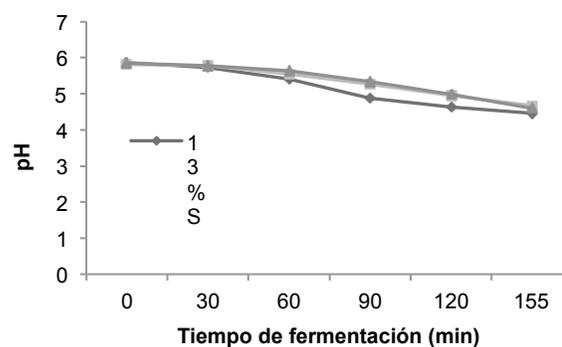


Figura 2. pH durante el proceso de fermentación

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Miranda *et al.*, (2007), quienes en su estudio observaron la dinámica de acidificación de una bebida inoculada con cultivos lácteos, y notaron que el contenido de ácido láctico en las muestras ensayadas se incrementó linealmente a partir de las 2 horas de inoculación. Los cultivos utilizados desarrollaron una mayor acidez, y por tanto un descenso del pH a partir de las seis horas, lo que coincidió con el aumento de la pendiente de la curva de titulación del ácido láctico, hasta llegar a ser de 0,71% a las 24 horas.

Pruebas microbiológicas

En la Tabla 3 se muestran los resultados de pruebas microbiológicas realizadas a la bebida láctea fermentada en sus diferentes concentraciones de sólidos solubles. Se observa que las tres bebidas cumplen los requisitos microbiológicos según la Resolución 02310 (1986), por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos. Estos hallazgos permiten afirmar que la bebida fue

realizada en condiciones higiénicas–sanitarias adecuadas, y que el número de organismos encontrados se encuentra dentro de las especificaciones de calidad microbiológica establecidas.

CONCLUSIONES

Los resultados mostrados en este trabajo demuestran que es posible la elaboración de una bebida láctea fermentada teniendo como materia prima el lactosuero. Este podría constituir un medio de cultivo apropiado para que las cepas *Streptococcus salivarius ssp Thermophilus* y *Lactobacillus casei ssp Casei* prosperen, ya que permite tener poblaciones altas de UFC/ml durante

Tabla 3
Pruebas microbiológicas realizadas a la bebida

Bebida	Mesoaerobios (UFC/mL)	C. totales (UFC/mL)	C. fecales (UFC/mL)
13% SS	2300	0	0
17% SS	1200	0	0
21% SS	640	0	0
Permitido	N/A	<90 UFC/mL	0

un periodo de almacenamiento relativamente corto. Existe un aumento favorable en los niveles de lactosa, sólidos solubles, proteína y densidad. Hubo ausencia total de coliformes totales y fecales en los tres productos elaborados. A mayor contenido de sólidos solubles mayores fueron los niveles de lactosa, sólidos solubles, proteína, densidad y acidez.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, D., Jaimes, J.D., Espitia, C.R. Efecto de la Adición de Lactosuero al Queso Costeño Amasado. (2015). Información tecnológica. 26(2): 11-16.
- Alava, C., Gomes de Ilera, M., Maya, J.A. Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto. (2014). Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales. 1(1): 22-32.
- A.O.A.C. *Association of Official Analytical Chemists*, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th edition, Maryland, USA (2003).
- Almeida, K.E.; Tamime, A.Y.; Oliveira, M.N. Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. (2009). LWT - Food Science and Technology. 42(2): 672-678
- Arteaga, M.; Molina, L.H.; Pinto, M.; Brito, C. Caracterización de queso chanco enriquecido con suero lácteo en polvo. (2009). Revista Chilena de Nutrición. 36(1): 53-62
- Balagdatas, J.V.; Hutchinson, F.M.; Krochta, J.M.; Sumner, D. A res, Anticipating market effects of new uses for whey and evaluating returns to research and development. (2003). Journal of dairy science. 86(1): 1662–1672.
- Carrillo, M.L., Reyes, A. Vida útil de los alimentos. (2013). Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias. 2(3): 1-25
- Cury, K., Arteaga, M., Martínez, G., Luján, D., Durango, A. (2014). Evaluation of acid whey fermentation (whole and deproteinized) using *Lactobacillus casei*. Revista Colombiana de Biotecnología. 16(1): 137-145.
- García-Mogollon, C., Alvis-Bermudez, A., Romero, P. Aplicación del Mapa de Preferencia Externo en la Formulación de una Bebida Saborizada de Lactosuero y Pulpa de Maracuyá. (2015). Información tecnológica. 26(5): 17-24.
- Gonzalez, J. Elaboración y evaluación nutricional de una bebida proteica a base de lactosuero y chocho (*Lupinusmutabilis*) como suplemento alimenticio. Tesis de pregrado, Escuela de bioquímica y farmacia, Escuela superior politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador, (2011).
- Guerrero, W.J. Gomez, C.A.; Castro, J.; González, C.A.; Santos, E.M. Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el valle de Tulancingo, XII Congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos, 321-328, Guanajuato, (2010).
- Hannibal, B., Antonio, S., Mercy, A., Evelyn, R., Paola, V., Adriana, R. Aprovechamiento del suero de leche como bebida

- energizante para minimizar el impacto ambiental. (2015). European Scientific Journal 11(26): 1857-7881.
- Huertas, R.A., Montiel, R.G. Evaluación del comportamiento de un reactor UASB con diferentes cargas orgánicas provenientes de lactosuero. (2014). Producción Limpia 9(1): 23-30.
- Koutinas, A.; Papapostolou, H.; Dimitrellou, D.; Kopsahelis, N.; Katechaki, E.; Bekatorou, A. Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. (2009). Bioresource Technology. 100(15): 3734-3739.
- Lodoño, M.M.; Sepúlveda, J.U.; Hernández, A.; Parra, J.E. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. (2008). Rev, Fac, Nal, Agr, Medellín. 61(1): 4409-4421.
- Lombana, J., Martínez, D., Valverde, M., Oquendo, J.R., Catrillon, J., Marino, W. Caracterización del sector ganadero del Caribe colombiano. Editorial Universidad del Norte; Asoganorte, 2012. pp. 2-5.
- Miranda, E.; Fonseca, P.L.; Ponce, I.; Cedeño, C.; Sam, L.; Martí, L. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso, Características distintivas y control de calidad. (2007). Rev Cubana Aliment Nutr. 17(2): 103-108.
- NTC 399. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Colombia), Productos lácteos, Leches fermentadas, Cuarta Actualización, Bogotá, Colombia (2002).
- NTC 4519. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Colombia), Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal, Método horizontal para el recuento de microorganismos, Técnica de recuento de colonias a 30 °C, Primera Actualización, Bogotá, Colombia (2009).
- NTC 4722. Leche y productos lácteos. Método para determinar el contenido de grasa. Método gravimétrico. Bogotá: ICONTEC, (1999).
- NTC 805. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Colombia), Productos lácteos, Leche Cruda, Cuarta Actualización, Bogotá, Colombia (2005).
- Parra, R.A. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. (2009). Rev, Fac, Nal, Agr, Medellín. 62(1): 4967-4982.
- Resolución 02310. Ministerio de salud (Colombia), Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos, Bogotá, Colombia. (1986). 39p.