

YOGUR INCREMENTADO EN PROTEÍNAS, REDUCIDO EN LACTOSA Y CON BACTERIAS PROBIÓTICAS. EFECTO DE LA FORMULACIÓN EN LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y ANTIOXIDANTES.

Solís, Milena

Instituto de Lactología Industrial (INLAIN), Universidad Nacional del Litoral/Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UNL/CONICET). Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santiago del Estero 2829, S3000AOM Santa Fe, Argentina.

Claudia Vénica (Tutora del proyecto proyectaBIO)

Ma. Cristina Perotti (directora de tesina), I. Veronica Wolf (codirectora de tesina)

Área temática: 2. Ciencias Biológicas

Palabras clave: Yogur funcional, probióticos, propiedades fisicoquímicas y antioxidantes.

INTRODUCCION

El mercado de leches fermentadas con características nutritivas, funcionales y sensoriales incrementadas es dinámico, y constantemente se lanzan al mercado nuevas propuestas. Entre las versiones más novedosas se identifican los yogures incrementados en proteínas y los reducidos en lactosa y en grasa, y con bacterias probióticas. Las proteínas son uno de los macronutrientes que contribuyen a otorgar saciedad. Reducir la lactosa es ventajoso para contrarrestar los inconvenientes que presenta su digestión y absorción para las personas intolerantes. Por su parte, el yogur es una de las matrices más populares para vehicular probióticos. Herramientas biotecnológicas de diferente naturaleza se pueden emplear para lograr estos objetivos. Por un lado, la formulación de la leche con ingredientes fuente de proteínas lácteas en polvo o concentrados líquidos obtenidos por membranas (retentado de ultrafiltración -UF-) se proponen para incrementar el contenido de proteínas. La leche posee componentes antioxidantes de diferente naturaleza (péptidos, proteínas, ácidos grasos) los que se encuentran naturalmente o se forman durante la fermentación. Al consumir alimentos con propiedad antioxidante se contribuye a mantener el sistema de defensa antioxidante del organismo previniendo y retrasando el progreso de muchas enfermedades. Por otro lado, la reducción de lactosa se puede conseguir mediante la hidrólisis de la lactosa por vía enzimática con β -galactosidasas; bajo determinadas condiciones de reacción, estas enzimas también pueden generar galactooligosacáridos (GOS) en una reacción de transgalactosilación que ocurre simultáneamente a la de hidrólisis (Damin et al., 2009; Martins et al., 2012). Los GOS son carbohidratos no digeribles que tienen una función prebiótica reconocida (Lamsal, 2012). Finalmente, la cepa potencialmente probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 que fue aislada de leche materna, demostró propiedades antiinflamatorias y de prevenir infecciones entéricas en estudios in vivo (Burns et al., 2017). Todas estas intervenciones pueden afectar el proceso fermentativo, viabilidad microbiana, capacidad antioxidante y calidad del producto final, por lo que requieren su optimización.

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de diferentes ingredientes en polvo y retentado de UF (R), la incorporación de una β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* y de la cepa de bifidobacteria mencionada, en la cinética de fermentación, los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y actividad antioxidante del yogur durante la fermentación y almacenamiento (28 días a 5 °C); asimismo, se realizó un estudio de mercado sobre la intención de compra de yogur funcional.

Proyecto acreditado en el que se enmarca la investigación: Prototipo para la elaboración de una bebida láctea fermentada reducida en lactosa, con altos niveles de proteína y con bifidobacterias autóctonas de leche materna como estrategia para contribuir a combatir la globesidad, Proyectá Bio 2019 código 36 (UNL), Tutora: Dra. Claudia I. Vénica.

Tesina: "Evaluación del status oxidativo y actividad antioxidante en alimentos lácteos" de Milena Solís, Ciclo de Lic. en Ciencia y Tecnología de Alimentos (FIQ, UNL), 20/05/2021. Directora: Ma. Cristina Perotti, Codir.: I. Verónica Wolf.

METODOLOGÍA

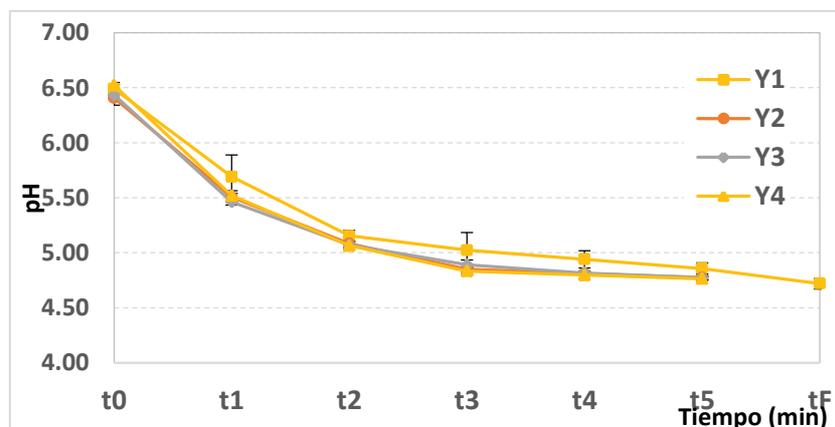
Se siguió un protocolo de elaboración de yogur a escala laboratorio, empleando un fermento comercial de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* según Vénica et al. (2019). Se ensayaron 4 formulaciones; Y1: R (retentado a partir de leche descremada), Y2: R + WPC80 (concentrados de proteínas de suero 80%), Y3: R + WPC35 (concentrados de proteínas de suero 35%) y Y4: leche fluida + WPC80 + leche en polvo descremada. La enzima se adicionó junto con el fermento y la cepa de bifidobacteria se agregó en el enfriamiento.

Se midió la evolución de pH durante la fermentación y almacenamiento (1, 14 y 28 días). Se determinó la acidez titulable por titulación con solución NaOH N/9, se realizaron recuentos microbiológicos y se midió la capacidad de retención de agua (CRA) por centrifugación y pesada del suero liberado durante el almacenamiento (1, 14 y 28 días) (Vénica et al. 2019). La composición global se determinó por métodos normalizados a los 14 días y la actividad antioxidante con método del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) a los 28 días (Saveena Farvin et al., 2010). Se realizó un estudio de mercado sobre la intención de compra de yogur funcional con características a las obtenidas en este trabajo (Bevilacqua et al., 2019).

Se realizaron tres réplicas de elaboración; se calculó el promedio, la desviación estándar y se aplicó un análisis de variancia de una vía y test de Tukey para detectar diferencias significativas entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

Todos los yogures siguieron una evolución de pH similar hasta 240 minutos, a partir de allí se observó una menor velocidad de acidificación para Y1 en comparación al resto de las formulaciones ($p < 0,05$), lo que finalmente se manifestó en un retraso en alcanzar el pH final ($4,7 \pm 0,05$) (Figura 1). La disminución de pH es el resultado del consumo de lactosa y generación principalmente de ácido láctico, por la actividad acidificante del fermento. Asimismo, la cinética de disminución de pH depende también de la capacidad buffer de la matriz, que está influenciada por su composición (tipo y contenido de proteínas, estado de las mismas -nativas, desnaturalizadas- y constituyentes menores -fosfatos inorgánicos, citrato, ácidos orgánicos-). Los ingredientes en polvo poseen cierto grado de desnaturalización por el proceso aplicado durante su manufactura en contraposición al retentado de UF en el que las caseínas y proteínas de suero se encuentran en su estado nativo.



t0, inicio de fermentación; t1, 120 min.; t2, 180 min.; t3, 240 min.; t4, 255 min.; t5, 270 min. y tF, final de fermentación cuando se alcanza el pH target.

Figura 1. Evolución de pH durante la fermentación de las cuatro formulaciones de yogur (Valor medio de las tres réplicas de elaboración).

Las proteínas oscilaron entre 6,4 y 7,9 g 100 g⁻¹ (Y4 ~ Y3 ~ Y2 > Y1), los contenidos de grasa fueron similares en todos los yogures (1,2-1,4 g 100 g⁻¹) y están dentro de la categoría de parcialmente descremados (0,6-2,9 g 100 g⁻¹) y los sólidos totales variaron de 13,5 a 16,7 g 100 g⁻¹ (Y4 ~ Y3 > Y2 ~ Y1) (Tabla 1). La formulación de la leche no impactó (p>0,05) en los valores de pH a cada tiempo de muestreo; los valores de posacidificación (pH día 28 – pH día 1) fueron normales (0,22-0,30). La acidez titulable fue similar en todos los yogures al día 1, pequeñas diferencias se vieron a los 14 días, las cuales no se mantuvieron hacia los 28 días ya que todos los yogures tuvieron valores similares. Los valores de pH oscilaron entre 4,44 y 4,51 y los de acidez entre 124 y 137 °D (1 °D = 100 mg ácido láctico L⁻¹) a los 28 días. La concentración de lactosa en los yogures estuvo en el rango de 0,55 y 1,79 g 100 g⁻¹ a los 14 días (Tabla 1); los menores valores (p<0,05) fueron para Y1 y Y2 y los mayores para Y3 y Y4. Concentraciones similares fueron reportados por Vénica *et al.* (2016) para yogures reducidos en lactosa. Asimismo, se verificó la actividad transgalactosidasa que posee la enzima ya que se detectaron GOS en todas las muestras en concentraciones variables de 0,33 a 0,71 g 100 g⁻¹ (Tabla 1); los mayores valores (p<0,05) fueron para Y3, esto se atribuyó a que la formulación de este yogur tuvo la concentración de lactosa más alta, que es el sustrato para la síntesis de GOS (valores iniciales en la leche en g 100 g⁻¹: Y1, 4,68 ± 0,04; Y2, 4,35 ± 0,08 ; Y3, 6,88 ± 0,09; Y4, 6,45 ± 0,09). Los niveles más altos de GOS encontrados en los yogures de este trabajo son similares a aquellos reportados para formulas infantiles donde se ha demostrado efecto prebiótico (Chirido *et al.* 2011). Los recuentos de las bacterias del fermento y de las bifidobacterias se mantuvieron por encima de 8 órdenes log (unidades formadoras de colonias) g⁻¹ durante los 28 días, para las cuatro formulaciones. No se encontraron diferencias en los niveles de CRA de los yogures durante los 28 días; los menores valores se tuvieron para Y1 y los mayores para Y4. Este hecho está íntimamente relacionado con la composición de la matriz: Y4 e Y1 tuvieron los mayores y menores contenidos de proteínas y de sólidos totales, respectivamente. Por su parte, mayor nivel de actividad antioxidante (p<0,05) se encontró en Y4 en comparación al resto de los yogures. La actividad antioxidante está relacionada con el tipo de proteínas y nivel de agregado y la actividad metabólica de los fermentos empleados entre otros factores; se ha reportado mayor actividad antioxidante en yogures con agregado de WPC80. El estudio de mercado donde se encuestó a 261 personas reveló que el 82% se encontró preocupado en llevar una alimentación saludable principalmente por motivos de bienestar físico y mental y el 92% mencionó su interés en consumir un yogur funcional como el desarrollado en este trabajo (Bevilacqua *et al.*, 2019).

Tabla 1. Composición global de los yogures (g/100 g⁻¹) a los 14 días (5 °C). (Valor medio ± desviación estándar de las tres réplicas). Diferentes letras en cada columna significan diferencias estadísticas (Tukey test, p<0,05).

Tipo de yogur	Sólidos totales	Proteínas	Grasas	Lactosa	GOS
Y1	13,51 ± 0,09 ^b	6,41 ± 0,20 ^c	1,30 ± 0,12 ^a	0,64 ± 0,04 ^c	0,37 ± 0,01 ^b
Y2	13,96 ± 0,07 ^b	7,45 ± 0,23 ^{a,b}	1,36 ± 0,08 ^a	0,55 ± 0,06 ^c	0,33 ± 0,01 ^b
Y3	15,74 ± 0,75 ^a	7,28 ± 0,14 ^b	1,15 ± 0,09 ^a	1,79 ± 0,17 ^a	0,71 ± 0,01 ^a
Y4	16,73 ± 0,09 ^a	7,88 ± 0,14 ^a	1,31 ± 0,15 ^a	1,30 ± 0,06 ^b	0,67 ± 0,02 ^a

CONCLUSION

El desarrollo de yogures con características funcionales es una temática muy actual, lo que se demuestra por la constante irrupción de nuevos productos. El estudio de mercado reveló que los consumidores preocupados en llevar adelante una alimentación más saludable se muestran interesados en incorporar este tipo de alimentos a su dieta. En el presente trabajo

obtuvimos resultados muy alentadores, ya que se consiguieron formulaciones de yogur con alto nivel proteico, reducidos en tenor graso y en lactosa, conteniendo GOS, con altos niveles de una bacteria probiótica y con características fisicoquímicas, microbiológicas y capacidad antioxidante adecuadas.

BIBLIOGRAFÍA

BEVILACQUA, P.; BONTEMPI, G. y COTTONE L. (2019) Seminario de integración, proyecto de idea de negocio. Yogurt funcional. Facultad de Ciencias Económicas (FCE), UNL.

BURNS, P.; ALARD, J.; HRDÝ, J. *et al.* (2017) Spray-drying process preserves the protective capacity of a breast milk-derived *Bifidobacterium lactis* strain on acute and chronic colitis in mice. *Scientific Report*, 7, 43211.

CHIRDO, F. G.; MENÉNDEZ, A. M.; PITA MARTÍN DE PORTELA, M. L.; SOSA, P.; TOCA, M.; TRIFONE, L.; *et al.* (2011). Prebióticos en salud infantil. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 109, 49-55.

DAMIN, M. R.; ALCANTARA, M. R.; NUNES, A. P. y OLIVEIRA, M. N. (2009) Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *LWT – Food Science and Technology*, 42, 1744-1750.

LAMSAL, B.P. (2012) Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(10), 2020-2028.

MARTINS, A.R.; MONTEIRO, R.L.; DE MEDEIROS, F.; BURKET, J. y BURKET, C.A. (2012) Simultaneous enzymatic hydrolysis and lactic fermentation to obtain a yogurt with low lactose content. *Ciência e Agrotecnología*, 36, 551–559.

SABEENA FARVIN K., BARON C., NIELSEN N., JACOBSEN C. (2010) Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 1-in vitro assays and evaluation in omega-3 enriched milk. *Food Chemistry* 123, 1081–1089.

VÉNICA, C.; WOLF, I.; BERGAMINI, C. y PEROTTI, M. (2016) Influence of lactose hydrolysis on galacto-oligosaccharides, lactose, volatile profile and physicochemical parameters of different yogurt varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 4929–4939.

VÉNICA, C.; SPOTTI, M.; PAVÓN, Y.; MOLLI, J. y PEROTTI, M. (2019). Influence of carrot fibre powder addition on rheological, microstructure and sensory characteristics of stirred-type yogurt. *International Journal of Food Science and Technology*. doi:10.1111/ijfs.14415.