

**BEBIDAS FERMENTADAS DE LECHE DE VACA O CABRA:
COMPARACIÓN FISCOQUÍMICA, SENSORIAL Y DE VIABILIDAD
PROBIÓTICA^a****FERMENTED BEVERAGES OF COW'S OR GOAT'S MILK:
PHYSICOCHEMICAL, SENSORY AND PROBIOTIC VIABILITY COMPARISON**

Aguilar-Centeno, M.C.; Ozuna-López, C.; Rodríguez-Hernández, G.*

*Departamento de Alimentos. División de Ciencias de la vida. Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. Ex-Hacienda El Copal km 9 Carretera Irapuato-Silao. C.P. 36500. Irapuato, Guanajuato, México.
gabriela.rodriguez@ugto.mx**

Fecha de envío: 23, junio, 2020.

Fecha de envío: 30, julio, 2021

Resumen:

Las bebidas fermentadas son productos que usan leche de diferentes especies, la cual, por acción de microorganismos específicos, es sometida a un proceso fermentativo que confiere características sensoriales, nutricionales y fisicoquímicas específicas. Así mismo, se prolonga el tiempo de conservación principalmente debido a la disminución del pH. El objetivo del presente estudio fue realizar una comparación fisicoquímica, sensorial y de la viabilidad del probiótico *Lactobacillus acidophilus* (LA-5^R) y los microorganismos termodúricos presentes en las bebidas a base de leche de vaca o de cabra, monitoreadas durante su vida en anaquel (21 días). El presente estudio se desarrolló de agosto a diciembre de 2018, en el cual se realizaron cuatro tratamientos elaborando tres lotes de cada uno de ellos, todos incubados a 37°C hasta pH de 4.5, de los cuales, dos de los tratamientos se fermentaron con el probiótico LA-5^R, solo uno de ellos con leche de cabra y el otro con leche de vaca, y los otros dos tratamientos no fueron adicionados con probióticos, funcionando como controles de fermentación. A todos los tratamientos se les evaluaron parámetros fisicoquímicos, sensoriales y de cuantificación microbiológica (viabilidad del probiótico y los microorganismos termodúricos). Se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos elaborados para todas las variables evaluadas (fisicoquímicas, sensoriales y de viabilidad), así también, cabe resaltar que en la acidez titulable y la cuantificación microbiológica se observaron cambios por efecto del monitoreo de la vida en anaquel de las bebidas. Los parámetros fisicoquímicos evaluados en todas las bebidas se encontraron dentro de los rangos establecidos en las normas oficiales mexicanas correspondientes. Adicionalmente de acuerdo con los resultados de la evaluación sensorial, se observó una alta aceptación por los consumidores, los cuales prefirieron las bebidas control en ambos tanto las de leche de cabra o de vaca.

Palabras clave: *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R, alimentos funcionales, probióticos, termodúricos, prueba de aceptación.

^a Proyecto de estancia de investigación (no tesis). Nivel licenciatura

Abstract:

Fermented beverages are products that are obtained using milk from different species as raw material, which, by the action of specific microorganisms, is subjected to a fermentation process that confers specific sensory, nutritional and physicochemical characteristics. Likewise, the conservation time is prolonged mainly due to the decrease in pH. The objective of this study was to carry out a physicochemical, sensory and viability comparison of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* (LA-5R) and the thermotolerant microorganisms present in beverages based on cow's or goat's milk, monitored during their shelf life (21 days). The present study was developed from August to December 2018, in which, four treatments were carried out, making three batches of each of them, all incubated at 37 ° C up to a pH of 4.5, of which two of the treatments were fermented with the probiotic LA-5^R, only one of them with goat's milk. and the other with cow's milk, and the other two treatments were not added with probiotics, functioning in turn as fermentation controls. Physicochemical, sensory and microbiological quantification parameters (viability of the probiotic and thermotolerant microorganisms) were evaluated for all the treatments. Significant differences ($p < 0.05$) were detected between the treatments elaborated for all the evaluated variables (physicochemical, sensory and viability), as well as, it should be noted that in the titratable acidity and the microbiological quantification changes were observed due to the monitoring of the shelf life of beverages. The physicochemical parameters evaluated in all the beverages were within the ranges established in the corresponding official Mexican standards. Additionally, according to the results of the sensory evaluation, a high acceptance by consumers was observed, who preferred the control drinks in both cases, both those based on goat's milk and those based on cow's milk.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R, functional foods, probiotics, thermotolerants, acceptance test.

INTRODUCCIÓN

La leche y los productos lácteos son fuente de vitaminas, minerales, lípidos y proteínas de alto valor biológico (Jauhiainen y Korpela, 2007). Las bebidas fermentadas son productos que se obtienen utilizando como materia prima leche de diferentes especies (vaca, cabra, oveja, búfala, entre otras), en su elaboración, la leche, por acción de microorganismos específicos, es sometida a un proceso fermentativo que confiere características sensoriales específicas, así como la prolongación del tiempo de conservación debido a la disminución del pH principalmente (Rodríguez, 2010).

El conocimiento de cultivos lácticos se originó en el siglo XVIII, cuando agricultores de África, Asia y Europa observaron el comportamiento de la leche cruda en los meses cálidos, la leche coagulaba y bajo estas condiciones presentaba un sabor diferente. Las bacterias ácido lácticas (BAL), son ampliamente usadas y desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación, no solamente por su habilidad por acidificar y preservar alimentos, sino también por sus aportes sensoriales, como la textura, sabor, olor y desarrollo de aromas. Las BAL producen ácido láctico como el principal metabolito o único producto de fermentación, son microorganismos nutricionalmente exigentes los cuales son capaces de producir diversos metabolitos durante el proceso de fermentación (Axelsson, 1993).

Según la Organización Mundial de la Salud, los probióticos se definen como microorganismos vivos, los cuales en adecuadas concentraciones confieren aportes benéficos a la salud del hospedero (Rodríguez-Hernández et al., 2020), destacando el tratamiento de trastornos gastrointestinales, reducción de la intolerancia a la lactosa, entre otros. Los principales probióticos son las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que son comensales del tracto gastrointestinal del humano y han sido utilizadas en diversas fermentaciones alimentarias (Sanz, 2003).

Sin embargo, los microorganismos termodúricos, son los que resisten a procesos de pasteurización de la leche y usan sus componentes como nutrientes, principalmente los azúcares, las proteínas y grasas, causando cambios en las propiedades sensoriales y reduciendo la vida útil de los productos lácteos (Riveiro et al., 2018).

Por otra parte, es muy importante la calidad de la leche, es decir que cumpla con las especificaciones establecidas según las normativas legales vigentes. Esto es conforme a algunos aspectos bien definidos como lo son parámetros fisicoquímicos, sensoriales y nutricionales. La leche debe estar limpia, libre de calostros, de materias extrañas a su naturaleza, y presentar olor, color, sabor y aspecto característico (Requena, 1999). La leche de vaca es la mayormente consumida en todo el mundo, específicamente la producción nacional de leche de vaca en el año 2019, ascendió a los 12 mil 276 millones de litros, cifra que ha ido en aumento desde 1990, y que comparada con el año anterior 2018 fue

superada en 2.2% y dentro de la cual, el Estado de Guanajuato, ocupó el quinto lugar presentando un incremento de 1.2 %, (SIAP-SADER, 2020). No obstante, de la leche comercializada a nivel mundial, la de cabra representa el 2%. Además de sus posibilidades económicas, posee cualidades nutracéuticas y antialérgicas que la hacen apropiada para niños, adultos y madres que amamantan. Comparada con la leche materna, la leche de cabra contiene prácticamente la misma cantidad de ácido fólico y poco menos de vitaminas del complejo B (Maree 1978). Adicionalmente, esta leche presenta menos problemas de intolerancia, ya que contiene menos lactosa que otras (de 1% a 13% menos que la de vaca y hasta 41% menos que la humana). Así también, su aprovechamiento y digestibilidad, es mayor respecto a la de vaca, ya que forma en el estómago un coágulo más pequeño y blando, lo que favorece la acción de las proteasas digestivas (Richardson, 2004).

El objetivo del presente estudio se realizaron bebidas fermentadas a base de leche de vaca y de cabra, fermentadas con *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R, monitoreándose durante su vida en anaquel por 21 días, en términos fisicoquímicos, sensoriales y de viabilidad del probiótico, así como la presencia de macroorganismos termodúricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental del presente estudio se desarrolló de agosto a diciembre de 2018, en los laboratorios de Análisis de Alimentos y el laboratorio de evaluación sensorial, ambos del Departamento de Alimentos de la División de Ciencias de la Vida de la Universidad Guanajuato.

Análisis fisicoquímico de la leche bronca. Se determinó el perfil fisicoquímico de la leche bronca de vaca y de cabra, empleadas como materia prima para la elaboración de las bebidas, usando un equipo Lactoscan SA50, con el cual, se determinaron por triplicado los siguientes parámetros: grasa, sólidos no grasos (SNG), densidad, lactosa, sólidos, proteína, sólidos totales, agua adicionada, punto de congelación y conductividad. Aunado a esto se evaluaron cada una de las muestras de las bebidas también por triplicado para los siguientes parámetros: humedad, por pérdida de volumen (NOM-116-SSA1-1994); pH por método potenciométrico (AOAC 981.12 1998) y por titulación se determinaron proteína,

con el método Sorensen- Walker, lactosa, con el Método Lane y Eyon y acidez con NaOH 0.1 N, en grados Dornic (NOM-155-SCF1-2012).

Tratamientos de las bebidas fermentadas. Se prepararon cuatro tratamientos elaborando tres lotes de cada uno de ellos, todos incubados a 37°C hasta un pH de 4.5, evaluado por método potenciométrico (AOAC 981.12 1998). Dos de los tratamientos se fermentarán con 1% del cultivo *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (Chr. Hansen), solo que uno de ellos con leche de cabra y el otro con leche de vaca, los otros dos tratamientos no fueron adicionados con probióticos y su fermentación se dió por efecto de los microorganismos termodúricos presentes, considerándose como controles de fermentación, respectivamente para cada tipo de leche.

Monitoreo de vida en anaquel. Se evaluaron las bebidas almacenadas a 4°C, tomándose muestra a los 0, 7, 14 y 21 días para cuantificar: a) la acidez titulable según el método de la NOM-155-SCF1- 2012, y b) la concentración de *Lactobacillus acidophilus*, y microorganismos termodúricos, según la metodología descrita por Vinderola y Rehinheimer (1999). Todas las evaluaciones se realizarán por triplicado.

Evaluación sensorial de las bebidas. Se realizó una prueba de aceptación con un panel de 80 consumidores, según la metodología descrita por Hekmat y McMahon (1992). Anterior a la realización de la evaluación sensorial, se realizó una preselección de los panelistas, descartando personas intolerantes a la lactosa y con aditamentos metálicos dentales (ya que éstos últimos pueden alterar la percepción sensorial). A cada consumidor seleccionado, se le presentaron las cuatro muestras de las bebidas fermentadas a una temperatura de 4°C, correspondientes a cada tratamiento elaborado, cada una identificada con un código aleatorio de cuatro dígitos. A cada panelista, se les pidió que calificaran su agrado hacia los atributos de sabor, textura y acidez, usando una escala hedónica no escalonada de 0 a 9 puntos (siendo el punto 9 me gusta muchísimo, punto 8 me gusta mucho, 7 me gusta moderadamente, 6 me gusta poco, 5 no me gusta ni me disgusta, 4 me disgusta poco, 3 me disgusta moderadamente, 2 me disgusta mucho y punto 1 me disgusta muchísimo). La evaluación se llevó a cabo en grupos de 7 en 7 y cada panelista en una cabina individual.

Análisis estadístico. Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS (2006). Primeramente, para las variables fisicoquímicas y sensoriales, se llevó a cabo un análisis de varianza con el PROC GLM (procedimiento lineal general) y para la comparación de medias entre las bebidas, y se utilizó la prueba de TUKEY. Se usaron como variables clasificatorias los tratamientos y sus repeticiones, y como variables de respuesta cada uno de los parámetros fisicoquímicos y sensoriales evaluados. Considerando el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

y_{ij} = variable de respuesta en la j -ésima repetición de la i -ésima muestra.

μ = media general.

τ_i = efecto fijo de la i -ésimo tratamiento.

ε_{ij} = error aleatorio distribuido en forma normal con media cero y varianza, donde $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

En segunda instancia, se realizó la evaluación de la vida en anaquel de las bebidas, con las variables de acidez y la viabilidad de los microorganismos en los tratamientos, para lo cual, se usó el procedimiento MIXED, considerando un diseño en bloques (tres lotes) al azar con mediciones repetidas a través del tiempo. Se usaron como variables clasificatorias los tratamientos, y como variables de respuesta los conteos de viabilidad y acidez titulable. Considerando el siguiente modelo:

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + D_j + (\tau D)_{ij} + \beta_k + \Theta(ij) + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

y_{ijkl} = variable de respuesta medida a través del tiempo.

μ = media general.

τ_i = efecto fijo del i -ésimo tratamiento.

D_j = efecto del j -ésimo día (0, 7, 14, 21).

$(\tau D)_{ij}$ = efecto fijo de la interacción entre el i -ésimo tratamiento y el j -ésimo día.

β_k = efecto aleatorio del k -ésimo bloque.

$\Theta(ij)$ = efecto aleatorio de la j -ésima unidad experimental, anidado en el i -ésimo tratamiento.

ε_{ijkl} = error aleatorio distribuido en forma normal con media cero y varianza, donde $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímico de la leche bronca. Se evaluaron las características fisicoquímicas en los diferentes tipos de leche (Cuadro 1), dicho análisis es muy importante ya que determina en gran parte la calidad de la leche y además el valor como materia prima para elaborar productos alimenticios. Todos los parámetros presentaron diferencia significativa entre los distintos tipos de leche ($p < 0.05$), excepto en agua adicionada, ya que obtuvo un valor de 0 para ambos tipos de leche, lo cual, es lo ideal para toda leche. Respecto a las propiedades físicas, a 20°C la densidad de la leche es aproximadamente de 1030 kg/m³, pero esta depende de su composición (Walstra et al., 2001); en las leches analizadas, la de vaca presentó una densidad óptima, mientras que en la de cabra se registró una densidad menor (1027.5 kg/m³).

Se consideraron diversos parámetros importantes como la grasa ya que es la principal fuente de energía, además de que aporta compuestos esenciales como ácidos grasos y vitaminas a la misma; otro componente de importancia es la lactosa ya que es el azúcar característico de la leche, entre otros, los cuales se encuentran dentro de los parámetros establecidos según la NOM-155-SCF1-2012. Los componentes de la leche, en especial la lactosa, contribuyen al descenso del punto de congelación. El punto de congelación de la leche es relativamente constante y se encuentra, entre -0.51 y -0.58°C, por lo cual ambos tipos de leche cumplieron con este parámetro. La densidad también es muy importante ya que se emplea para convertir el volumen en masa y viceversa. Por otro lado, la conductividad eléctrica de la leche está dada por la presencia de iones como cloro, fosfato, calcio y sodio, y su valor promedio se encuentra entre 4.0 y 6.0 mS/cm para una leche de buena calidad (Roca, 2017), por lo cual también ambos tipos de leche cumplieron con este parámetro.



Cuadro 1. Análisis fisicoquímico de leche bronca de vaca y cabra.

Table 1. Physicochemical analysis of raw cows and goat's milk.

| Parámetro | Leche de vaca | Leche de cabra |
|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Grasa % | 3.66 ± 0.01 ^b | 5.57 ± 0.02 ^a |
| SNG % | 9.13 ± 0.01 ^a | 8.52 ± 0.02 ^b |
| Densidad kg/m ³ | 1031.39 ± 0.04 ^a | 1027.5 ± 0.09 ^b |
| Lactosa % | 5.01 ± 0 ^a | 4.68 ± 0.01 ^b |
| Sólidos % | 0.74 ± 1.35E-16 ^a | 0.68 ± 0 ^b |
| Proteína % | 3.33 ± 0 ^a | 3.09 ± 0 ^b |
| Sólidos totales % | 12.79 ± 0.01 ^b | 14.09 ± 0.01 ^a |
| Agua adicionada % | 0 ± 0 ^a | 0 ± 0 ^a |
| Pto. Congelación °C | -0.58 ± 0 ^b | -0.55 ± 0 ^a |
| Conductividad mS/cm | 4.64 ± 0.01 ^b | 5.49 ± 0.02 ^a |

Valores promedio ± desviación estándar. ^{a, b} Literales diferentes por columna indican diferencia significativa (p<0.05). SNG: Sólidos no grasos.

Tratamientos de las bebidas fermentadas. Para la muestra inicial de leche de vaca tuvo un valor de pH 7, para el tratamiento con LA-5 de leche de vaca, tardó 16 horas en obtener un pH de 4.5, mientras que para su control tardó 27 horas. Por otra parte, el pH de la muestra inicial de la bebida de leche de cabra tuvo un valor de 6.8, para el tratamiento con LA-5 de leche de cabra, tardó 11 horas en llegar a un pH de 4.5, mientras que para su control tardó 25 horas, cabe aclarar que la acidificación en ambos controles se debió a la presencia de microorganismos termodúricos identificados en este estudio (Figura 5). De igual manera se determinó la humedad (Figura 1), para las distintas bebidas fermentadas. La determinación de este parámetro en los alimentos es de suma importancia, ya que un elevado contenido de ésta influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos, provocando su descomposición y por lo tanto la pérdida de la calidad de un determinado alimento, es por ello, que se decidió determinar la humedad en las diferentes bebidas fermentadas de leche de vaca y cabra. En dichas bebidas existieron diferencias por efecto de tratamientos, tanto por el tipo de leche como por el tipo de fermentación (p<0.05). Los valores más altos para la bebida fermentada de leche de vaca a la cual se le adiciono el cultivo LA-5 (89.38 ± 0.31%) y los valores más bajos en el control de la bebida fermentada de leche de cabra (86.03 ± 0.6 %). Dichos valores se encuentran dentro de los parámetros establecidos, ya que debe contener un 87% aproximadamente (Badui, 2006).

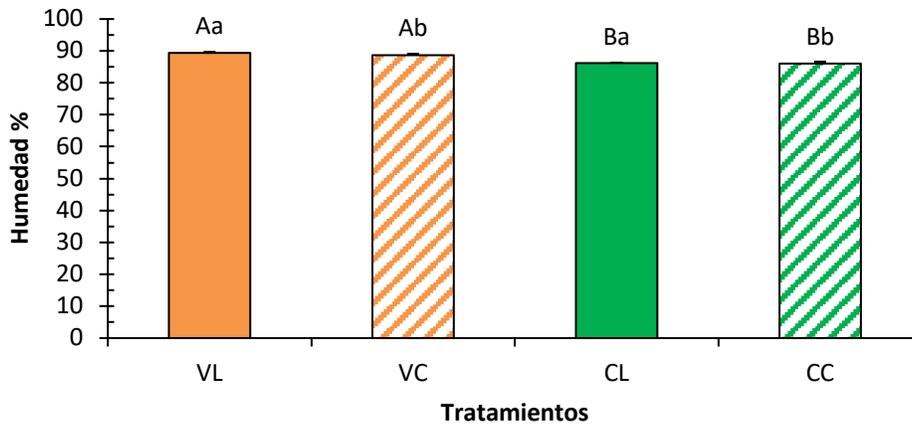


Figura 1. Valores de Humedad % en diferentes bebidas fermentadas de leche de vaca y cabra. (VL)bebida de leche de vaca con *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) Control de bebida de leche de vaca, (CL) bebida de leche de cabra con LA-5, (CC) Control de bebida de leche de cabra. ^{A,B} Literales diferentes en mayúsculas en cada barra indican diferencia significativa por efecto del tipo de leche. ^{a,b} Literales diferentes en minúscula indican diferencia significativa por efecto de la fermentación con el cultivo LA-5 (p<0.05).

Figure 1. Humidity values of fermented beverages of cow and goat milk. (VL) cow's milk beverage with *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) cow's milk beverage control, (CL) goat's milk beverage with LA-5, (CC) goat's milk beverage control. ^{A,B} Lifferent capitalized literals in each bar indicate significant difference for effect of milk type. ^{a,b} Different lowercase literals indicate significant difference for effect of fermentation with LA-5 culture (p<0.05).

La lactosa se determina aprovechando su propiedad de ser un azúcar reductor directo, que reduce al cobre de sus sales alcalinas, mediante su valoración volumétrica. Existen diversos métodos de cuantificación de carbohidratos basados en la capacidad reductora de los azúcares que tienen libre el grupo carbonilo. Estos carbohidratos son capaces de reducir elementos como el cobre (Cu⁺²), este es reducido desde Cu⁺² a Cu⁺¹. En el método de Lane y Eynon (1923) se hace reaccionar sulfato cúprico con azúcar reductor en medio alcalino, formándose oxidocuproso, el cual forma un precipitado rojo ladrillo. Este método utiliza azul de metileno como indicador, el cual es decolorado una vez que todo el cobre ha sido reducido, lo que indica el fin de la titulación (NOM-155-SCFI-2012).

Como se muestra en la Figura 2 se obtuvieron los valores más altos de lactosa para la bebida fermentada de leche de vaca con LA-5 (53.91 ± 1.84), seguida del control de este mismo tipo de leche (52.35 ± 1.95), continuando con el control de la bebida fermentada de leche de cabra (51.62 ± 1.46) y finalizando con la bebida de leche de cabra con LA-5 (50.29 ± 0.68). Se encontró diferencia significativa entre los distintos tipos de leche ($p < 0.05$).

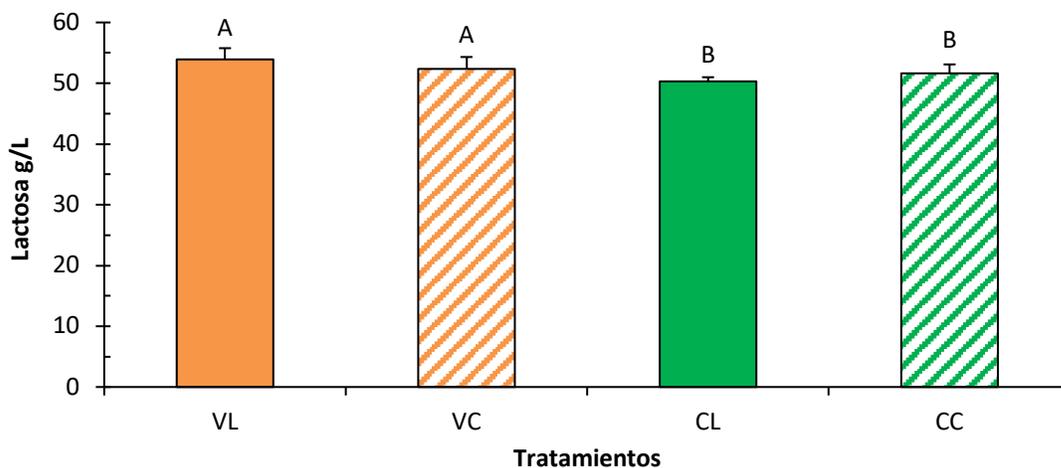


Figura 2. Valores de Lactosa g/L en diferentes bebidas fermentadas de leche de vaca y cabra. (VL) bebida de leche de vaca con *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) Control de bebida de leche de vaca, (CL) bebida de leche de cabra con LA-5, (CC) Control de bebida de leche de cabra. A,B Literales diferentes en mayúsculas en cada barra indican diferencia significativa por efecto del tipo de leche ($p < 0.05$).

Figure 2. Lactose values of fermented beverages of cow and goat milk. (VL) cow's milk drink with *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) cow's milk drink control, (CL) goat's milk drink with LA-5, (CC) goat's milk drink control. A,B Literals different in capital letters in each bar indicate significant difference due to effect of milk type ($p < 0.05$).

Por otra parte, se determinó el contenido de proteínas de las diferentes bebidas por el método de Sorensen-Walker (Figura 3), esta técnica lo determina mediante una valoración ácido base, ya que tras la adición de formol a la muestra, el formaldehído se une a los grupos amino de los aminoácidos de las proteínas dejando los grupos carboxilos libres. Este hecho produce cambios en la acidez

titulable de la leche siendo valorada con hidróxido de sodio. La cantidad de hidróxido de sodio utilizado en la neutralización es utilizado para calcular la cantidad de proteínas presente en la muestra. Según la NOM-181-SCFI-2010, se encuentra dentro de los parámetros establecidos ya que debe contener como mínimo 2.9%. Se encontraron los valores más altos en el control de la bebida fermentada de leche de vaca ($4.97 \pm 0.2\%$) y los valores más bajos en la bebida con LA-5 de este mismo tipo de leche ($4.18 \pm 0.31\%$). Existió diferencia significativa entre los tratamientos con LA-5 y los controles ($p < 0.05$).

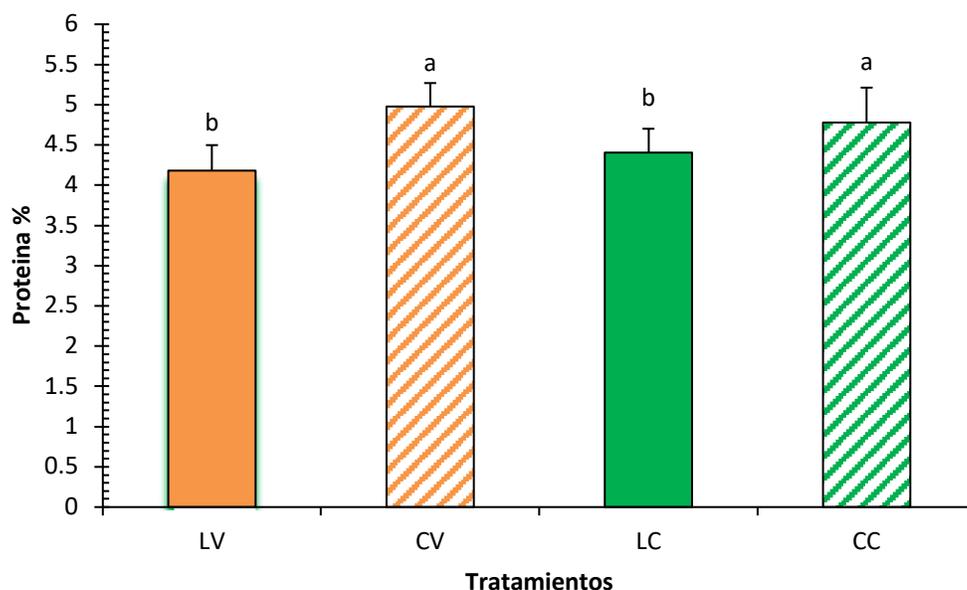


Figura 3. Valores de Proteína g/L en diferentes bebidas fermentadas de leche de vaca y cabra. (VL) bebida de leche de vaca *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) Control de bebida de leche de vaca, (CL) bebida de leche de cabra con LA-5, (CC) Control de bebida de leche de cabra. A,B Literales diferentes indican diferencia significativa por efecto de tratamiento ($p < 0.05$).

Figure 3. Protein values of fermented beverages of cow and goat milk. VL) cow's milk drink *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) cow's milk drink control, (CL) goat's milk drink with LA-5, (CC) goat's milk drink control. Different A,B Literals indicate significant difference by treatment effect ($p < 0.05$).

Monitoreo de vida en anaquel. Se evaluaron las todas bebidas almacenadas a los 0, 7, 14 y 21 días para cuantificar: a) la acidez titulable, y b) la concentración de *Lactobacillus acidophilus*, y microorganismos termodúricos. Para la determinación de la acidez titulable para todos los tratamientos, en los días 1, 7, 14 y 21 (Cuadro 2). La acidez titulable representa a los ácidos orgánicos presentes que se encuentran libres y se mide neutralizando las bebidas con una base fuerte, se calcula a partir de la cantidad de base necesaria para alcanzar el pH del punto final de la prueba usando NaOH como indicador. Para reportar la acidez, se considera el ácido orgánico más abundante del producto, el cual varía dependiendo de la especie que se trate, en este caso el que más predomina es el ácido láctico, por lo que el resultado se expresa en términos de la cantidad de este (Hardenburg, 1986).

Cuadro 2. Valores de acidez titulable (g/L) en bebidas fermentadas de leche de vaca y cabra.

Table 2. Titratable acidity values (g/L) in fermented beverages of cow and goat milk.

| Tratamientos | | | | |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | LA-5 | Control | LA-5 | Control |
| Día | Bebidas de leche de Vaca | | Bebidas de leche de Cabra | |
| 1 ^z | 7.86 ± 1.54 ^{Ba} | 6.63 ± 1.36 ^{Bb} | 7.81 ± 0.34 ^{Aa} | 6.48 ± 0.48 ^{Ab} |
| 7 ^y | 9.49 ± 1.09 ^{Ba} | 7.26 ± 0.86 ^{Bb} | 11.31 ± 0.40 ^{Aa} | 8.92 ± 0.97 ^{Ab} |
| 14 ^x | 11.19 ± 0.66 ^{Ba} | 7.96 ± 0.70 ^{Bb} | 12.91 ± 0.38 ^{Aa} | 9.57 ± 0.73 ^{Ab} |
| 21 ^x | 11.50 ± 0.59 ^{Ba} | 8.07 ± 0.78 ^{Bb} | 12.79 ± 0.62 ^{Aa} | 9.58 ± 0.80 ^{Ab} |

Valores promedio ± desviación estándar. *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5). A,B Literales diferentes en mayúsculas indican diferencia significativa por efecto del tipo de leche. X,Y,Z Literales diferentes, indican diferencia significativa por efecto del día de monitoreo. a,b Literales diferentes en minúscula por renglón, indican diferencia significativa por efecto de la interacción de día de monitoreo-tipo de leche (p<0.05).

De acuerdo con la NOM-181-SCFI-2010 la bebida cumple con la acidez mínima requerida, la cual debe de ser de 0.5% o 5g/L como mínimo. Como se muestra en el Cuadro 2, los valores de acidez aumentan conforme transcurren los días, la acidez desarrollada es consecuencia de la acción de bacterias fermentadoras de la lactosa, que producen un aumento de la concentración de ácido láctico. Así también, se encontró diferencia significativa para los distintos tipos de leche, y existió diferencia significativa entre las bebidas con LA-5 y las bebidas que se utilizaron como control. De igual manera se encontró diferencia significativa en las distintas bebidas en el día 1 y 7. Sin embargo, para el día 14 y 21 no se mostró diferencia (Livia, 2005).

Por otra parte, debido a que la seguridad y el control de calidad son muy importantes en los productos lácteos fermentados, es necesaria la investigación en su perfil microbiológico, así como monitorear la vida en anaquel. La viabilidad es la capacidad de un microorganismo para multiplicarse en un medio sólido formando una colonia. El monitoreo microbiológico de vida en anaquel de las bebidas, se muestra en las Figuras 4 y 5, durante el recuento se observaron dos tipos de colonias diferentes para las bebidas fermentadas de leche de vaca por lo cual se aplicó la técnica de tinción de Gram y se observó al microscopio para identificar las bacterias. Se encontraron bacterias Gram positivas (bacilos y cocos), estos últimos son microorganismos termodúricos que sobrevivieron al proceso de pasteurización (Mossel, 2008).

Para la viabilidad, existió diferencia significativa entre los tratamientos elaborados ($p < 0.05$), encontrándose los valores más altos de carga microbiana para las bebidas fermentadas adicionadas con el probiótico LA-5, como era de esperarse, cabe destacar que la concentración del probiótico no mostró cambios según el tipo de leche, no observándose preferencia por ninguna de las dos, pero si creciendo bien en ambos tipos de leche. Con respecto al efecto del día de monitoreo, se observaron diferencias notorias principalmente dadas por el efecto de la adición del probiótico, y no por el tipo de leche.



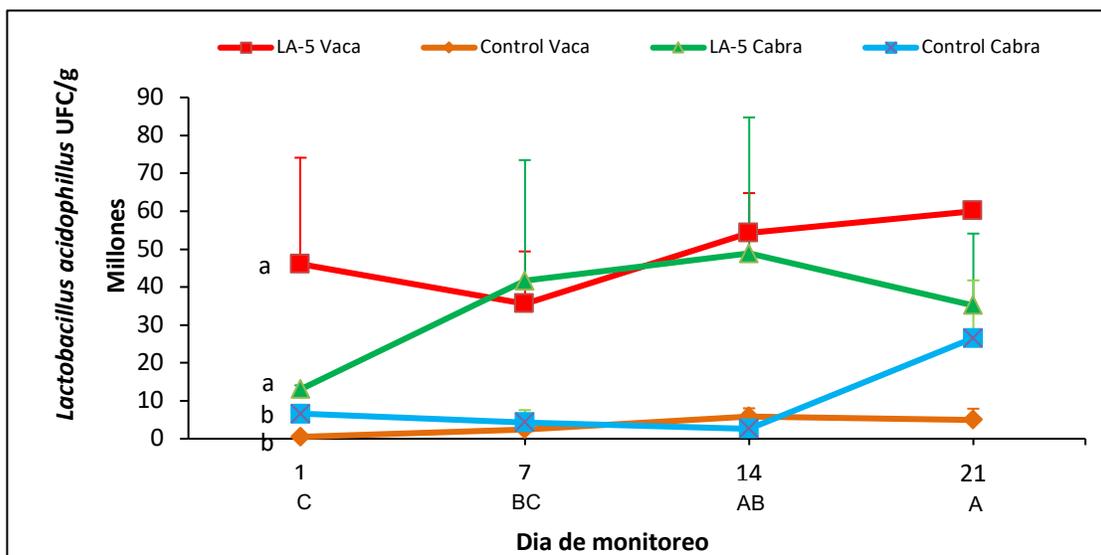


Figura 4. Monitoreo de vida en anaquel en bebidas fermentadas de leche de vaca y cabra. *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5). Valores promedio \pm desviación estándar. A,B Literales diferentes en mayúsculas en cada barra indican diferencia significativa por efecto del día de monitoreo. a,b Literales diferentes en minúscula indican diferencia significativa por efecto de tratamiento ($p < 0.05$).

Figure 4. Shelf life of fermented beverages of cow and goat milk. *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5). Mean values \pm standard deviation. A,B Different capitalized literals in each bar indicate significant difference by monitoring day effect. a,b Different lowercase literals indicate significant difference by treatment effect ($p < 0.05$).

Conforme la NOM-181-SCFI-2010, las bebidas fermentadas, como el yogurth deberán tener como mínimo 10^6 UFC/g de la suma de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus viables* en caso de contener cultivos adicionales. Los microorganismos deben permanecer viables, activos y abundantes hasta la fecha de caducidad del producto. Como se muestra en la Figura 4 para el conteo de lactobacilos para los tratamientos con LA-5, tanto de leche de vaca como de cabra, se cumple con las especificaciones de dicha norma, así mismo para los controles ya que ahí no se le adiciona ningún cultivo.

Por otra parte, respecto al conteo de microorganismos termodúricos, solo fueron identificados en las bebidas elaboradas a base de leche de vaca, en la Figura 5, se muestra que hay una menor concentración y se empieza a mostrar crecimiento hasta el día 7. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, de igual manera en los días 7 y 21, sin embargo, para el día 0 y 14 no la hubo. Los microorganismos termodúricos pueden sobrevivir a temperaturas considerablemente más altas que sus temperaturas óptimas de crecimiento, en rangos de temperatura que van de 60 a 80°C, como en la pasteurización (Downs, 2001).

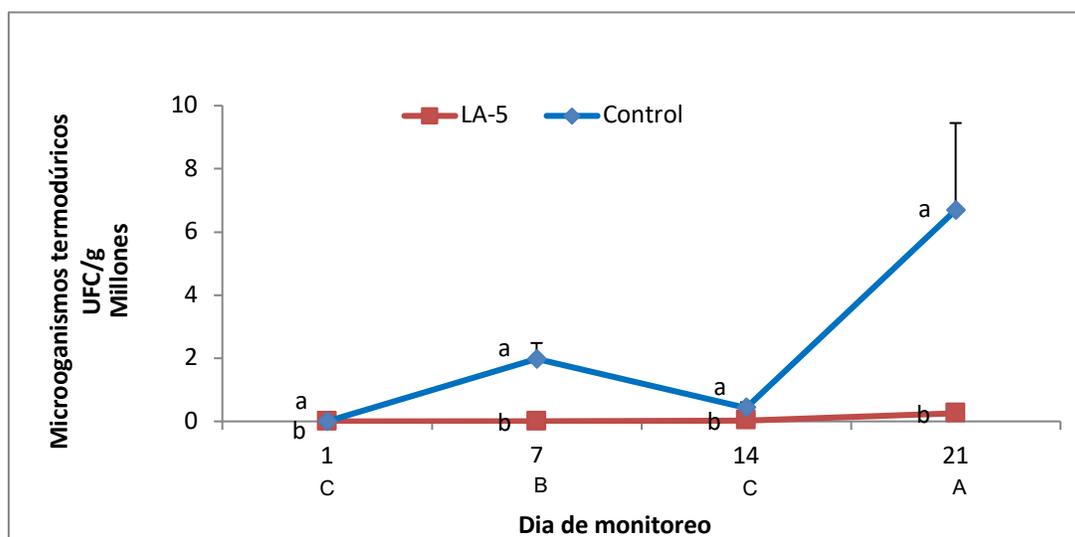


Figura 5. Monitoreo de microorganismos termodúricos durante la vida en anaquel en bebidas fermentadas de leche de vaca. *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5). Valores promedio \pm desviación estándar. A,B Literales diferentes en mayúsculas en cada barra indican diferencia significativa por efecto del día de monitoreo. a,b Literales diferentes en minúscula indican diferencia significativa por efecto de tratamiento ($p < 0.05$).

Figure 5. Shelf life monitoring of thermotolerant microorganism in fermented beverages of cow and goat milk. *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5). Mean values \pm standard deviation. A,B Different capitalized literals in each bar indicate significant difference by monitoring day effect. a,b Different lowercase literals indicate significant difference by treatment effect ($p < 0.05$).

Evaluación sensorial de las bebidas. La evaluación sensorial es el análisis de los alimentos u otros materiales por medio de los sentidos. Es una técnica de medición y análisis tan importante como los métodos químicos, físicos, microbiológicos, etc. Este tipo de análisis tiene la ventaja de que la persona que efectúa las mediciones lleva consigo sus propios instrumentos de análisis, o sea: sus cinco sentidos. Para este análisis (Figura 6), se utilizaron escalas hedónicas, en las cuales se le pide al consumidor que valore el grado de satisfacción general que le produce un producto utilizando una escala que le proporciona el analista. En este caso para la valoración de tres atributos, como la textura que es una propiedad sensorial muy importante de los alimentos ya que es detectada por los sentidos del tacto (la consistencia es agradable), la vista (percibirá la deformación) y el oído (si es granulosa, fibrosa, etc.). Así mismo, se evaluó el sabor, este atributo es muy complejo ya que engloba tres propiedades: el olor (se dice de que alimento se trata), el aroma (si es agradable a tu nariz) y el gusto (se puede juzgar si es dulce, salado, amargo, etc.). El sabor es lo que diferencia un alimento de otro (Anzaldúa, 2005).

Como se muestra en la Figura 6, todas las bebidas fueron evaluadas con altos niveles de aceptación. Sin embargo, las bebidas con los valores mayores, fueron los controles para ambos tipos de leche, en este sentido no existió diferencia significativa por agrado en tipo de leche usada ($p > 0.05$). Siendo para los consumidores de mayor agrado las bebidas libres de *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R. Lo cual, demuestra que los alimentos elaborados a base de leche de cabra, pueden igualarse en calidad sensorial a los hechos a base de leche de vaca. Dicha argumentación coincide con Chacón-Villalobos et al., (2013), quienes, tras comparar dulces de leche elaborados con diferentes proporciones de leche de vaca y cabra, observaron que sus panelistas mostraron agrado hacia los productos con ambos tipos de leche y sus mezclas en diferentes medidas.



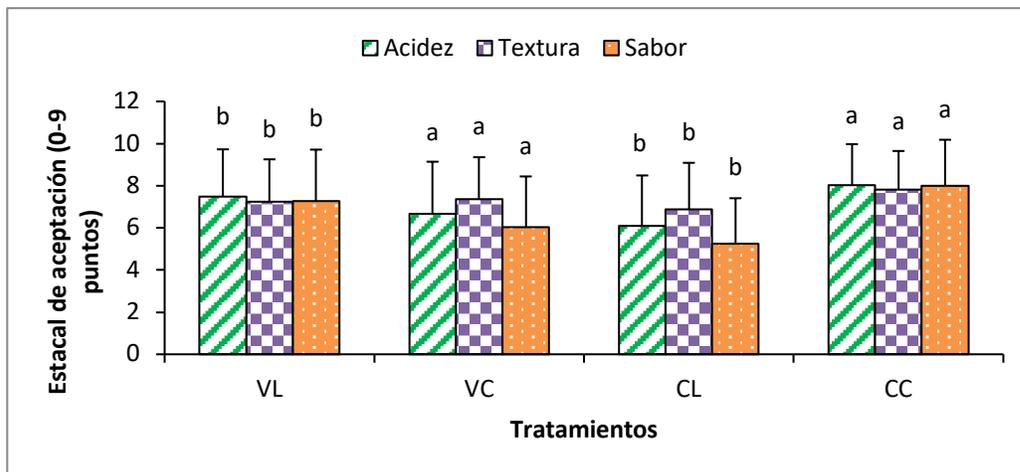


Figura 6. Prueba de aceptación para los atributos de acidez, textura y sabor, en bebidas fermentadas de leche de vaca y de cabra. Valores promedio \pm desviación estándar. (VL) bebida de leche de vaca *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) Control de bebida de leche de vaca, (CL) bebida de leche de cabra con LA-5, (CC) Control de bebida de leche de cabra. ^{a,b} Literales diferentes indican diferencia significativa por efecto de la fermentación con el cultivo LA-5 ($p < 0.05$). No se presentaron diferencias significativas por efecto de tipo de leche usada ($p > 0.05$).

Figure 6. Acceptance test for acidity, texture and flavor attributes in fermented beverages of cow and goat milk. Mean values \pm standard deviation. (VL) cow's milk drink *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R (LA-5), (VC) cow's milk drink control, (CL) goat's milk drink with LA-5, (CC) goat's milk drink control. ^{a,b} Different literals indicate significant difference for effect of fermentation with LA-5 culture ($p < 0.05$). No significant difference was present for effect of type of milk used ($p > 0.05$).

CONCLUSIÓN

Los parámetros fisicoquímicos de ambas leches usadas en este estudio se encontraron dentro de los rangos establecidos según las oficiales mexicanas correspondientes. Con respecto a los conteos microbiológicos en las bebidas, se identificó que el probiótico inoculado *Lactobacillus acidophilus* LA-5^R, y los microorganismos termodúricos (identificados solo en leche de vaca), lograron mantener su viabilidad a lo largo de la vida en anaquel de las bebidas, no

obstante, se identificaron diferencias a lo largo del monitoreo, así como también por efecto de tratamientos para ambas determinaciones. Además de acuerdo a los resultados del análisis sensorial empleado se considera que todas las bebidas elaboradas en este estudio presentaron una buena aceptación por los consumidores, mismos que a su vez mostraron mayor agrado por las bebidas que no fueron adicionadas con el probiótico y se fermentaron solamente con los microorganismos termodúricos; sin mostrar diferencia entre el agrado acorde al tipo de leche de las bebidas, lo cual indica que las bebidas de leche de cabra pueden igualarse en aceptación a las bebidas elaboradas a base de leche de vaca, pudiendo representar con mayores aportes funcionales.

LITERATURA CITADA

- Anzaldúa-Morales, A. (2005). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. De la edición en lengua española. Acribia.
- AOAC 981.12. (1998). Métodos oficiales de Análisis. Método de determinación de potencial de iones hidrógeno (pH).
- Axelsson, L. (1993). Lactic acid bacteria classification and physiology. Ed Nueva York: Marcel Dekker.
- Baduí, S. (2006). Química de los Alimentos. Cuarta edición. Pearson educación, México.
- Chacón-Villalobos, A., Pineda-Castro M.L., & Méndez-Rojas S.G. (2013). Efecto de la proporción de leche bovina y caprina en las características del dulce de leche. *Agronomía mesoamericana*, 24(1), 149-167.
- Downs, F.P. & Ito, K. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington.
- Hardenburg, R.E., Watada, A.E. & Wang, C.Y. (1986). The Commercial Storage of Fruits, Vegetables and Florist and Nursery Stocks. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Agriculture Handbook, 66 130.
- Hekmat, S. & McMahoh, D. J. (1992). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J. Dairy Sci*, 75, 1415-1422.

- Jauhiainen, T. & Korpela, R. (2007). Milk Peptides and Blood Pressure. *J. Nutr*, 137, 825S–829S.
- Livia, M. (2005). El pH y la acidez de la leche. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2º ed., INTA.
- Maree, H.P. (1978). Goat milk an its use as hypo-allergenic infant food. *Dairy Goat Journal*, 43, 363-365.
- Mossel, B. (2008). Microbiología de Alimentos. Coliformes totales y fecales (2 ed.). Acribia.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-116-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamientotérmico. Método por arena o gasa. Diario Oficial de la Federación. 29 de Junio de 1995.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-155-SCFI-2012. Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. 15 de Marzo del 2012.
- Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yogurt-Denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. 16 de noviembre de 2010.
- Requena, F. (1999). Factores que afectan la calidad de la leche. Boletín Técnico Agropecuario, 7(5), 4-6.
- Richardson, C.W. (2004). Let´s learn about dairy goats and goat´s milk. Oklahoma Cooperative Extensión Service. Oklahoma State University. Boletín N° 424.
- Ribeiro Júnior, J. C., Tamanini, R., de Oliveira, A. L. M., Alfieri, A. A., & Beloti, V. (2018). Genetic diversity of thermotolerant spoilage microorganisms of milk from Brazilian dairy farms. *J. Dairy Sci*, 101, 6927–6936
- Roca, A. (2017). Estudio de la conductividad eléctrica de la leche de oveja manchega como método de detección de mamitis (Tesis). Universidad Miguel Hernández, Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Cd. Orihuela, España.
- Rodríguez, B. (2010). Tratado de nutrición. Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Médica Panamericana.
- Rodríguez-Hernández, G., Rentería-Monterrubio, A.L., Gutiérrez-Méndez, N., Ortega-Gutiérrez, J.A. Santellano-Estrada, E., Rojas-González, S., &

- Chávez-Martínez, A. (2020). Effect of probiotic cultures on the angiotensin converting enzyme inhibitory activity of whey-based fermented beverages. *J Food Sci Technol*, 57, 3731–3738
- SIAP-SADER, (2020). Boletín de leche de Mayo 2020. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. México.
- Sanz, Y. (2003). Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC). Valencia. *Acta Pediátrica Española*, 61(9), 476-482
- SAS, Statistical Analysis System. (2006). Version 9.1.3 for Windows. SAS Institute Inc., Cary, N.C.
- Vinderola, C. G. & Rehinheimer J. A. (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yogurt bacteria. *Int. Dairy J*, 9, 497-505.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., & van Boekel, M.A.J.S. (2001). Leche: Composición, estructura y propiedades. En: Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Acribia.
- Walstra, P. & Jenness, R. (1984). Química y física lactológica. Acribia.

