

Desarrollo de un helado de leche con cultivos probióticos

Development of an Milk ice Cream With Probiotic Cultures

Dr. C. Aldo Hernández-Monzón¹, aldohm@ifal.uh.cu, Lic. Yanelis Guerra-Reyes¹,
Lic. Yosley Pedroso-Phiney¹, MSc. Heidy Pérez-Leonard^{II}

¹Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Cuba, ^{II}Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, La Habana, Cuba

Este trabajo tuvo como objetivo desarrollar un helado de leche con cultivos probióticos con buena viabilidad y aceptabilidad utilizando las cepas de Lactobacillus plantarum LB/103-1-5, Lactobacillus casei, y Lactobacillus acidophilus. Como materias primas se utilizaron: leche entera en polvo, edulcorante, pasta finigel y los cultivos referidos. El helado se elaboró por el método tradicional con una dosis de cultivo del 20 %. Las variables respuesta en el helado fueron: la viabilidad de los microorganismos, el pH, la acidez y la aceptabilidad del producto. Se obtuvo un producto con una calificación de me gusta y una viabilidad en el intervalo de log (ufc/mL) entre 10,25 a 8,53, destacándose el L. plantarum. Las mejores variantes de mezclas de helados fueron las elaboradas con el cultivo Lactobacillus plantarum y la mezcla de los cultivos Lactobacillus casei y Lactobacillus plantarum.

Palabras clave: helado de leche, lactobacillus plantarum, lactobacillus casei, lactobacillus acidophilus.

This work had as objective to develop a milk ice cream with probiotic starter cultures with good viability and acceptability using the cultures Lactobacillus plantarum LB/103-1-5, Lactobacillus casei and Lactobacillus acidophilus like raw materials was used: powdered whole milk, sweetener, finigel paste and the referred starter cultures. The ice cream was elaborated by the additional method with a dose of culture of 20%. The response variable in the ice cream was: the viability of the microorganisms, the pH, the acidity and the acceptability of the product. A product was obtained with a qualification of I like and a viability in the log interval (ufc/mL) among 10,25 at 8,53, standing out the L. plantarum. The best variants of mixtures of ice creams were those elaborated with the cultures Lactobacillus plantarum and the mixture of the cultures Lactobacillus casei and Lactobacillus plantarum.

Key words: milk ice cream, lactobacillus plantarum, lactobacillus casei, lactobacillus acidophilus.

Introducción

Existen evidencias de los efectos promotores de la salud a través de estudios bien diseñados y controlados con unas pocas cepas de bacterias lácticas bien documentadas y administradas. De modo general, todo lo que contribuye a mantener el cuerpo en buenas condiciones, en particular un estilo de vida saludable y una dieta equilibrada, contribuye a mantener los sistemas de defensa del intestino clasificados en tres grandes líneas: la flora intestinal, la mucosa intestinal y el epitelio, y el sistema inmunitario, suficientemente activos para que den una respuesta eficaz a cualquier agresión externa. Dado que la flora intestinal humana juega un papel muy importante en la salud y las enfermedades del hombre, los probióticos se utilizan con el fin de mejorar la salud intestinal y estimular el sistema inmunológico /1, 2/.

Numerosos proyectos de investigación se han realizado con el objetivo de la utilización de cultivos probióticos en alimentos lácteos, tales como leches fermentadas, bebidas lácteas, quesos y helados probióticos.

En el caso específico de helados se han desarrollado productos mediante la incorporación de los microorganismos probióticos a la mezcla para helado antes de su congelación. Desde la década de los 90 y hasta la actualidad se han venido realizando una serie de investigaciones relacionadas con la supervivencia de las bacterias ácido lácticas a las temperaturas de congelación y almacenamiento de los helados, entre las cepas de bacterias probióticas más utilizadas se encuentran el *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus rhamnosus* /3/.

Se han obtenido varios productos con características variables en cuanto al sabor y al contenido de bacterias probióticas, así se desarrolló un helado de yogur con supervivencia de las bacterias ácido lácticas por un período mayor a un año a $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$, demostrándose así el potencial de supervivencia de las bacterias ácido lácticas específicamente *Lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus* y del *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* /4/.

Con las cepas *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus acidophilus*. se obtuvo un helado de vainilla conteniendo con una mezcla que contenía de 25 a 50 % de cultivo láctico, el helado fue evaluado después de almacenado $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 16 semanas y el conteo de viables fue del orden de 10^{10} ufc/mL /5/.

En Cuba se han realizado varios trabajos encaminados al desarrollo de helados con cultivos probióticos, entre ellos un helado de yogur utilizando las cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, para la elaboración del producto utilizaron diferentes dosis de inóculo de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* (2, 4, 6 y 8 %), adicionando ambos cultivos en igual proporción, el helado presentó buena aceptabilidad y mantuvo la viabilidad por encima de 10^6 ufc/mL durante 60 días /6/.

Con los cultivos probióticos *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*. en relación 1:1 y dosis al 20 % desarrollaron un helado crema y un helado hipocalórico con una viabilidad del orden de 10^9 ufc/mL y 10^7 ufc/mL respectivamente, la aceptabilidad fue de *me gusta mucho* para el helado crema y *me gusta* para el helado hipocalórico /7/, el helado crema elaborado a escala industrial tuvo una vida de anaquel hasta 60 días sin afectación de su viabilidad /8/.

La mayoría de los resultados de investigación informados en helados probióticos están dados en base a mezclas clasificadas como helados de crema, contenido de grasa de 8 a 12 %, debido a la capacidad protectora que ejerce la grasa sobre efecto de las bajas temperaturas de congelación ($-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$) a los microorganismos probióticos. En helados clasificados como de leche, con un contenido de 2 a 7 % grasa, no se han encontrado reportes científicos al respecto.

Teniendo en cuenta los antecedentes que aparecen reportados en la literatura acerca de los helados con presencia de bacterias ácido lácticas este trabajo tuvo como objetivo desarrollar un helado de leche con cultivos probióticos con buena viabilidad y aceptabilidad utilizando las cepas de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus acidophilus*.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en una pequeña fábrica de helados donde se elaboraron las mezclas y los helados. Los análisis correspondientes fueron realizados en el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) y en el Departamento de Alimentos del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana.

Materias primas

Las materias primas utilizadas para la elaboración de las mezclas de helado fueron las siguientes: leche entera en polvo con 26 % de grasa y 71 % de sólidos no grasos; grasa vegetal hidrogenada; mezcla de estabilizador E420 y emulsionante E471 Finegel; azúcar refinado; saborizante fresa con semilla Gelatitalia; cultivos lácticos: *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* procedentes del banco de cepas del Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria (IIIA) y *Lactobacillus plantarum* LB/103-1-5 perteneciente a la colección de cultivos del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA), todos probados como probióticos.

Los análisis de control realizados fueron los siguientes: acidez total expresada en ácido láctico /9/, sólidos totales /10/, materia grasa /11/, pH mediante el método potenciométrico /12/, viabilidad de los microorganismos probióticos mediante el método de diluciones seriadas y siembra en placa Petric en medio agar-MRS. Las placas se incubaron de 24 a 48 h a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ /13/, recuento de coliformes totales /14/, recuento de mesófilos aerobios /15/ y recuento de hongos y levaduras /16/.

Para la evaluación sensorial del producto se realizó la prueba de intensidad de aceptación con jueces potencialmente consumidores, se utilizó la escala hedónica de siete puntos con valor máximo de siete puntos, "me gusta extremadamente" y el valor mínimo de un punto "me disgusta extremadamente" /17/.

Para la elaboración de los helados se utilizó como base una mezcla de helado de leche (3,2 % de grasa; sólidos no grasos, 9,3 %; azúcar 13,8 % y estabilizador 0,2 %) previamente homogeneizada, pasteurizada a 72 °C durante 30 min. y madurada a temperatura de 4 °C durante 14 h. Para la elaboración del helado con cultivos se utilizó el método de adición, los mismos se incorporaron a la mezcla justo antes de la congelación. Las combinaciones de cultivos utilizadas fueron las siguientes: *L. plantarum* LB/103-1-5 y *Lactobacillus casei* 1:1; *L. plantarum* LB/103-1-5 y *Lactobacillus acidophilus* 1:1; y *L. plantarum* LB/103-1-5. La dosis de cultivo utilizada en cada formulación fue de 20 %. Para la congelación de la mezcla se utilizó una congeladora pequeña, modelo FRISHER 300 con capacidad para congelar 10 L de mezcla. El producto terminado se almacenó en las cámaras de congelación a -20 °C.

Al helado se le realizaron los controles siguientes: composición (grasa, sólidos totales, acidez y pH); viabilidad de los microorganismos después de la congelación a las 48 h; conteo de coliformes totales y mesófilos aeróbicos y aceptabilidad.

Los resultados fueron procesados mediante el programa de estadística StatGraphics plus 5.1 /18/.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestran los resultados de los análisis realizados a los cultivos antes de ser añadidos a las mezclas.

Los cultivos presentaron una acidez adecuada de acuerdo a las características específicas de cada uno. La viabilidad fue superior al orden de 10^9 ufc/mL y no existieron diferencias significativas entre de los tres cultivos ($p \leq 0,05$).

Con respecto a la acidez es de vital importancia controlar el tiempo de incubación en el caso de los cultivos *Lactobacillus acidophilus* y el *Lactobacillus casei* para que no se incremente la acidez de los mismos, debido a que esta sería una posible causa de rechazo de un helado con adición de alguno de estos cultivos.

Tabla 1
Resultados de los indicadores evaluados
en los cultivos utilizados en la elaboración del helado

Indicadores	<i>L. plantarum</i>		<i>L. casei</i>		<i>L. acidophilus</i>	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Acidez (%)	0,55	0,00	1,47	0,00	1,50	0,00
Células viables (log(ufc/mL))	10,08	0,54	9,73	0,55	9,74	0,42

Los valores medios de los indicadores químicos controlados en las mezclas de helados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2
Valores medios de los indicadores
químicos de las mezclas de helado sabor fresa

Indicadores	<i>L. plantarum</i>		<i>L. casei</i> y <i>L. plantarum</i>		<i>L. acidophilus</i> y <i>L. plantarum</i>	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Grasa (%)	4,0	0,0	4,2	0,0	4,0	0,0
Sólidos totales (%)	26,69	0,00	28,80	0,00	28,19	0,00
Acidez (%)	0,27	0,00	0,33	0,00	0,45	0,00
pH	6,0	0,0	5,8	0,0	5,7	0,0

Los sólidos totales de las tres mezclas de helado coincidieron de acuerdo a la formulación diseñada para este tipo de helado y el contenido de materia grasa fue mínima cumpliendo con lo establecido para un helado de leche (4 %).

La acidez en las mezclas de helado se comportó según las combinaciones de cultivo y el poder acidificante de cada uno, siendo la de mayor acidez la variante con el cultivo *Lactobacillus acidophilus*.

Los helados elaborados con *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus plantarum* presentaron una acidez similar (0,34 %) a la reportada para el helado de crema con mezcla de los cultivos *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* con una dosis de un 20 % de cultivo /8/.

Los resultados de pH mostraron poca variabilidad para las mezclas de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casei*, estos valores se encuentran en los intervalos reportados para el helado de crema /8/ que fueron de 5,90; 5,52 a pesar de ser elaborado con otros cultivos; llama la atención el *Lactobacillus plantarum* que no modificó prácticamente este indicador en la mezcla lo cual beneficia al producto por no afectar el sabor por acidez alta.

Los valores de la viabilidad de los helados de fresa con cultivos probióticos después de 24 h de congelados se muestran en la tabla 3.

Tabla 3
Conteo de células viables (log(ufc/mL))
en el helado sabor fresa con cultivos probióticos

<i>L. plantarum</i>		<i>L. casei</i> y <i>L. plantarum</i>		<i>L. acidophilus</i> y <i>L. plantarum</i>	
Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
10,25 a	0,54	8,95 b	0,46	8,53 b	0,52

Leyenda: Letras iguales indican no diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Como se observa las tres formulaciones presentaron excelente viabilidad encontrándose en el intervalo de log (ufc/mL) entre 10,25 a 8,53

cumpliendo con el criterio de viabilidad establecido para que un producto sea considerado con propiedades probióticas, en este grupo se destacó el *L. plantarum*. Al someter los datos de la viabilidad de los tres helados al análisis estadístico

se obtuvo como resultado diferencias significativas ($p \leq 0,05$), siendo diferente con mayor viabilidad el *L. plantarum*.

Estos resultados prueban que los microorganismos utilizados en la elaboración de estos helados resisten por igual las bajas temperaturas a la que son sometidos en la congelación de la mezcla con afectaciones mínimas de su viabilidad a pesar de no presentar la protección que ejerce la grasa como ocurre con los helados de crema.

Las tres mezclas de helado presentaron buena calidad microbiológica ya que todos sus indicadores cumplieron con los límites permisibles para este tipo de producto /14 - 16/.

En la tabla 4 se presentan los resultados de la evaluación sensorial de las diferentes formulaciones, como puede apreciarse los helados elaborados con los cultivos *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus*

plantarum tuvieron buena aceptación por parte de los consumidores con la calificación de me gusta a diferencia del helado con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus plantarum* el cual obtuvo una calificación de ni me gusta ni me disgusta, la causa que llevó a este resultado fue la acidez tan elevada del cultivo *Lactobacillus acidophilus* (1,50 % ácido láctico) que le transmitió al helado un sabor acentuado a leche fermentada y por tanto la tendencia al rechazo por parte de los consumidores.

Teniendo en cuenta este análisis y la composición en cuanto a microorganismo puede plantearse que la variante de helado con *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus casei* es mucho más ventajosa porque debe reunir las cualidades de ambos microorganismos tales como: favorecer el alivio de las molestias y síntomas ligados al síndrome de intestino irritable, mejorar enfermedades como las infecciones vaginales, la intolerancia a la lactosa y el colesterol alto.

Tabla 4
Resultados de la evaluación sensorial
de las diferentes formulaciones de helado

Variantes de cultivo	Puntuación	Calificación
<i>L. plantarum</i>	5	Me gusta
<i>L. casei</i> y <i>L. plantarum</i>	5	Me gusta
<i>L. acidophilus</i> y <i>L. plantarum</i>	4	Ni me gusta ni me disgusta

Conclusiones

- 1 Usando el *L. plantarum* LB/103-1-5 y las diferentes mezclas de cultivos probióticos *L. casei* y *L. plantarum* LB/103-1-5 y *L. acidophilus* y *L. plantarum* LB/103-1-5 en relación 1:1 al 20 % en una mezcla de helado de leche con sabor fresa se obtuvieron productos con excelente viabilidad en el intervalo de log (ufc/mL) de 10,25 a 8,53, siendo el de mayor viabilidad el *L. plantarum* LB/103-1-5.
- 2 Los helados elaborados con los cultivos y *L. plantarum* LB/103-1-5 y la mezcla de cultivos

Lactobacillus casei y *L. plantarum* LB/103-1-5, tuvieron buena aceptación por parte de los consumidores con la calificación de me gusta.

Bibliografía

- 1 SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. *International-Dairy-Journal* 1998; 8, 5/6, 563-572s.
- 2 TORRES, R. *Flora intestinal, probióticos y salud*. Jalisco, Editorial Gráfica Nueva, México. 1999.
- 3 HAGEN, M.; NARVHUS, J. *Production of ice cream containing probiotic bacteria*. *Milchwissenschaft*, 1999, 54, 5, 265 – 268.

-
- 4 LÓPEZ, M.; MEDINA, L.; JORDANO, R. *Supervivencia de bacterias lácticas en yogurt comercial congelado*. *J. Food, Sci.*, 1998, 63, 4, 706 – 707.
 - 5 CHRISTIANSEN, P. S.; EDELSTEN, D.; KRISTIANSEN, J. R.; NIELSEN, E. W. Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*- 1996; Vol 51, No 9: 502-504s.
 - 6 OTERO, M.; RODRÍGUEZ, T.; FERNÁNDEZ, M.; GONZÁLEZ, J.; LIMA, L. *Helado de yogurt*. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Cuba. 2000.
 - 7 HERNÁNDEZ A.; ÁVILA L.; MONTERO, D.; BARRANTES, C. *Desarrollo de helados con cultivos probióticos Lactobacillus casei y Lactobacillus acidophilus*. @alimentech .2007, 5,1, 5-12.
 - 8 ÁVILA, L. *Desarrollo de un helado crema con cultivos probióticos*. Tesis presentada en opción al título de Máster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Cuba. 2005.
 - 9 NC-85-2004. *Acidez total expresada en por ciento de ácido láctico*.
 - 10 NC/ISO-3728: 2006. *Determinación del contenido de sólidos totales*.
 - 11 NC/ISO-7328: 2004. *Determinación del contenido de materia grasa en helado y mezclas de helados*.
 - 12 AOAC. *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Washington D.C. 2005.
 - 13 NRIAL 065: *Determinación de viabilidad en placa con medio Agar MRS*. 2008.
 - 14 NC: ISO: 483:2006. *Recuento de coliformes*
 - 15 NC: ISO: 4833:02. *Recuento de mesófilos aerobios*
 - 16 NC: ISO 7954: 2002. *Recuento total de hongos y levaduras*
 - 17 ESPINOSA, J. M. *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Disponible en: <http://eduniv.mes.edu.cu>.2007
 - 18 STATGRAPHICS Plus 5. *Manugistics, Inc.* 2000.