

## Evaluación de las propiedades funcionales y reológicas de un yogurt tipo griego adicionado con probióticos microencapsulados

M.I Vázquez-Aguilar, L.G. Abadía-García, S. Amaya-Llano, B. Murua-Pagola

Facultad de Química, Ing. Química en Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro. [b.murua@hotmail.com](mailto:b.murua@hotmail.com)

**RESUMEN:** En la actualidad, la ingesta de probióticos ha tomado gran importancia debido a sus beneficios a la salud intestinal. Los productos fermentados constituyen los principales vehículos para el aporte de probióticos, ya que además de las propiedades funcionales, tienen una gran aceptación en la población. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la incorporación de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei* ATCC 334) microencapsulados mediante secado por aspersión en la manufactura y calidad de un yogurt estilo griego, evaluando la sobrevivencia de las células probióticas a lo largo de su almacenamiento durante 21 días a 4°C y en condiciones gastrointestinales simuladas después de 3 semanas de almacenamiento, así como las propiedades reológicas del producto. La cuenta viable de bacterias tanto encapsuladas como libres se incrementó durante la fermentación y las células encapsuladas mostraron mayor sobrevivencia durante el almacenamiento. Un comportamiento similar se observó durante su exposición a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal. Los resultados de viscosidad muestran que el yogurt es un fluido no Newtoniano. El yogurt adicionado de probióticos encapsulados exhibió la máxima viscosidad al inicio del almacenamiento no mostrando diferencias significativas con el control y la muestra adicionada de bacterias libres después de 3 semanas a 4°C.

**Palabras clave:** Microencapsulación, probióticos, reología, yogurt.

**ABSTRACT:** Nowadays, the intake of probiotics has become of great importance due to the benefits to the intestinal health. Fermented products are the main vehicles for the supply of probiotics because of the great acceptance in the population in addition of their functional properties. The objective of this work was to study the effect of incorporation of microencapsulated probiotic microorganisms (*Lactobacillus casei* ATCC 334) by spray drying in the manufacture and quality of a greek style yogurt, evaluating the survival of the microencapsulated and free probiotic cells throughout its storage during 21 days at 4°C and under simulated gastrointestinal conditions after 3 weeks, as well as the rheological properties. During the fermentation process the initial number of added probiotic cells for both encapsulated and non-encapsulated bacteria increased. The encapsulated bacteria showed a greater survival during storage. A similar behavior was observed when the cells in yoghurt were exposed to simulated gastrointestinal conditions. Evaluation of viscosity showed that yoghurt is a non-Newtonian fluid. The sample with encapsulated cells exhibited the maximum viscosity at the beginning of storage and were not different with control and with sample added with free probiotic after 3 weeks at 4°C.

**Keywords:** Microencapsulation, probiotics, rheology, yogurt.

**Área:** Lácteos

### INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, la conciencia y las preferencias de los consumidores por los alimentos funcionales que promueven la salud y previenen enfermedades han atraído un interés considerable tanto de la industria alimentaria como de la comunidad científica. Los productos que contienen probióticos prevalecen entre los alimentos funcionales más destacados (Zoumpoulou *et al.*, 2017).

El yogurt y las leches fermentadas se consideran los portadores más populares para el suministro de probióticos debido a su gran aceptación por parte de los consumidores y su excelente valor nutricional, sin embargo, para proporcionar los beneficios de salud declarados, se ha recomendado que las bacterias probióticas deben presentar un nivel mínimo de 6 log UFC por gramo de producto alimenticio hasta el final de su vida útil. Además de la supervivencia de las bacterias probióticas durante el almacenamiento del producto, también existe la preocupación con respecto a la capacidad del

probiótico para resistir el paso a través del tracto gastrointestinal para colonizar en el huésped (Pinto *et al.*, 2017).

La microencapsulación ha surgido como una alternativa para la protección de los probióticos y varias investigaciones han aplicado esta técnica para mejorar la supervivencia de los estos microorganismos en el yogur y durante su paso a través del tracto gastrointestinal. Entre las técnicas de microencapsulación existentes, el secado por aspersión es reconocido como una de las más convenientes en términos de requerimientos de energía, costo y rendimiento del proceso. El daño térmico y osmótico a las células probióticas se ha minimizado mediante la selección cuidadosa de las condiciones operativas y la composición del medio portador (Pinto *et al.*, 2017).

El objetivo de este trabajo fue formular un yogurt estilo griego y estudiar el efecto de la incorporación de microorganismos probióticos (*L. casei* ATCC334) microencapsulados mediante secado por aspersión en una suspensión de aislado de proteína de suero sobre la sobrevivencia del probiótico durante el almacenamiento durante 21 días a 4°C, durante su trayecto por el tracto gastrointestinal (TGI) después de 3 semanas de almacenamiento y sobre las propiedades reológicas del producto. Se realizaron análisis bromatológicos al yogurt formulado y se determinó la viscosidad aparente a muestras de yogurt adicionadas de probióticos encapsulados, de probióticos en forma libre y un control (sin células adicionadas) durante su almacenamiento por tres semanas. Las bacterias encapsuladas y no encapsuladas incrementaron su número durante la primera semana de almacenamiento y las bacterias encapsuladas mostraron una mayor sobrevivencia que las bacterias libres después de 3 semanas. Al exponer las muestras de yogurt a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal, se registró una reducción de 2.3 ciclos logarítmicos de las bacterias encapsuladas y de 4.3 ciclos logarítmicos en las bacterias libres. Al evaluar la viscosidad, se confirmó que el yogurt griego tiene un comportamiento de fluido no Newtoniano. Al inicio del almacenamiento, el tratamiento que presentó el mayor valor de viscosidad fue el adicionado con bacterias encapsuladas. Los tres tratamientos mostraron una tendencia a incrementar la viscosidad aparente durante el período de evaluación. A las 3 semanas, el control exhibió la máxima viscosidad, seguido del tratamiento de células encapsuladas. La microencapsulación mostró un efecto protector a las bacterias tanto en el almacenamiento como en condiciones simuladas del TGI y coadyuvó a la textura del producto durante el período de almacenamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Microencapsulación de células probióticas

Se prepararon suspensiones acuosas del material encapsulante (aislado de proteína de suero). En cada suspensión del material matriz se dispersaron aproximadamente  $10^9$  UFC/mL de células del probiótico. La microencapsulación se llevó a cabo en un secador por aspersión de laboratorio marca Büchi, Modelo B-290 a una temperatura de 150°C.

### Formulación de yogurt griego

Se formuló un yogurt griego mediante la adición de sólidos de leche, para ello se utilizó leche entera, concentrado de proteína de leche, azúcar, almidón modificado y grenetina como estabilizantes en cantidades permitidas por la norma mexicana NOM-181-SCFI-2010. Se dio un tratamiento térmico de 85°C durante 10 minutos. La mezcla se enfrió a una temperatura de 45°C y se inoculó con el cultivo iniciador y el cultivo probiótico. Se incubó a 42-45°C hasta alcanzar un pH de 4.8. El yogurt se enfrió y almacenó en refrigeración a 4°C.

### Análisis Bromatológicos del yogurt estilo griego formulado

El total de sólidos, proteína, grasa y cenizas fueron determinados por los métodos de normas mexicanas (NMX-F-083-1986, NMX-F-068-S-1980, NMX-F-387-1982 y NMX-F-066-S-1978) respectivamente.

### **Evaluación de la sobrevivencia de *Lactobacillus casei* en muestras de yogurt estilo griego almacenadas a 4°C**

Se determinó la cuenta viable de las células de las muestras de yogurt con células libres y encapsuladas cada semana durante 21 días en agar MRS adicionado de vancomicina de acuerdo con (Charteris *et al.*, 1998).

### **Tolerancia a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal**

A 10 g de las muestras de dos tratamientos (células libres y células encapsuladas) se le adicionaron 10 mL de saliva artificial y 80 mL de jugo gástrico simulado (pH 2), se homogenizaron manualmente por 1 minuto y se incubaron a 37°C durante 2 h. Se monitoreó la cuenta viable recién colocada la saliva y el jugo gástrico simulado y a las 2 horas de residencia en estas soluciones. Las suspensiones fueron centrifugadas a 6000 rpm por 5 minutos. El sobrenadante se decantó y la pastilla resultante fue resuspendida en jugo intestinal simulado (pH 8) e incubada a 37°C durante 4 horas. La cuenta viable de las bacterias fue determinada a las 2 h y a las 4 h, de acuerdo a lo reportado por (Charteris *et al.*, 1998) con modificaciones.

### **Evaluación de la viscosidad aparente**

Las mediciones de viscosidad de las muestras de yogurt se llevaron a cabo en un viscosímetro Brookfield modelo DV2T, utilizando una sonda número 4. La velocidad de rotación se incrementó de 1 a 10 rpm tomando lectura cada 30 s por 7.5 minutos. Se midió la viscosidad cada semana durante 3 semanas de acuerdo a lo reportado por (Pinto *et al.*, 2017) con modificaciones.

### **Análisis estadístico**

Los datos experimentales se analizaron mediante un análisis de varianza y se compararon las medias entre sí utilizando una prueba de Tukey. Todos los análisis se realizaron con el programa JMP versión 5.0.1.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

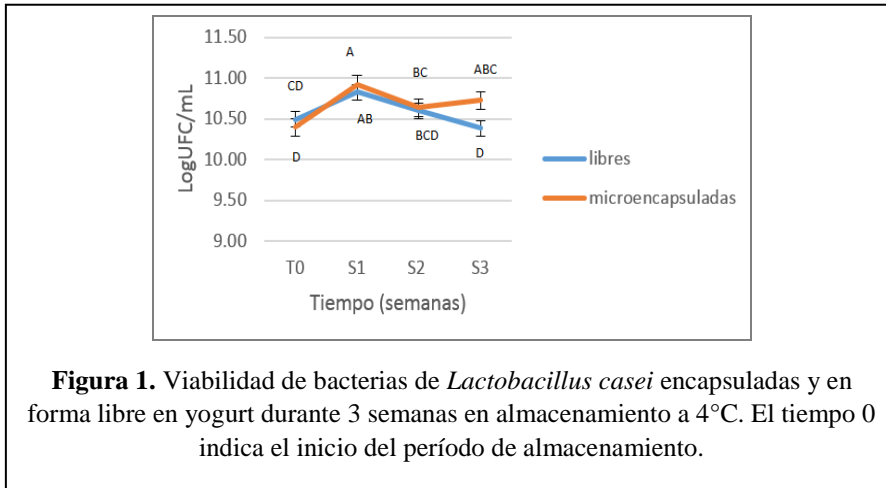
### **Análisis Bromatológicos del yogurt estilo griego formulado**

Se hizo un análisis a la formulación del yogurt y de acuerdo con la NOM-181-SCFI/SAGARPA-2018, los valores obtenidos son los adecuados para este tipo de producto (Ver Tabla I).

| <b>Tabla I. Análisis del yogurt formulado</b> |                   |
|---|-------------------|
| <b>Parámetros</b>                             | <b>Resultados</b> |
| Humedad (%)                                   | 76.16± 0.805      |
| Cenizas (%)                                   | 0.91± 0.110       |
| Proteína (%)                                  | 15.61±0.515       |
| Grasa (%)                                     | 3.15±0.07         |
| pH  | 4.76±0.0          |
| Acidez (%)                                    | 1.05±0.01         |

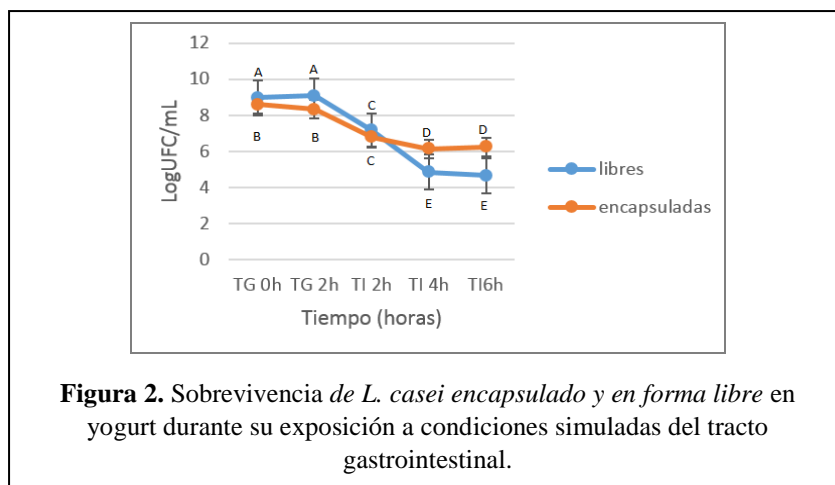
### **Evaluación de la sobrevivencia de *Lactobacillus casei* en muestras de yogurt estilo griego almacenadas a 4°C**

Al hacer el monitoreo de las bacterias durante el almacenamiento, no hubo diferencia significativa, pero se observó un incremento en la población de células tanto encapsuladas como libres (Figura 1). Las células microencapsuladas mostraron una mayor sobrevivencia durante el período de almacenamiento debido al efecto protector del material encapsulante.



### Tolerancia a condiciones simuladas del tracto gastrointestinal

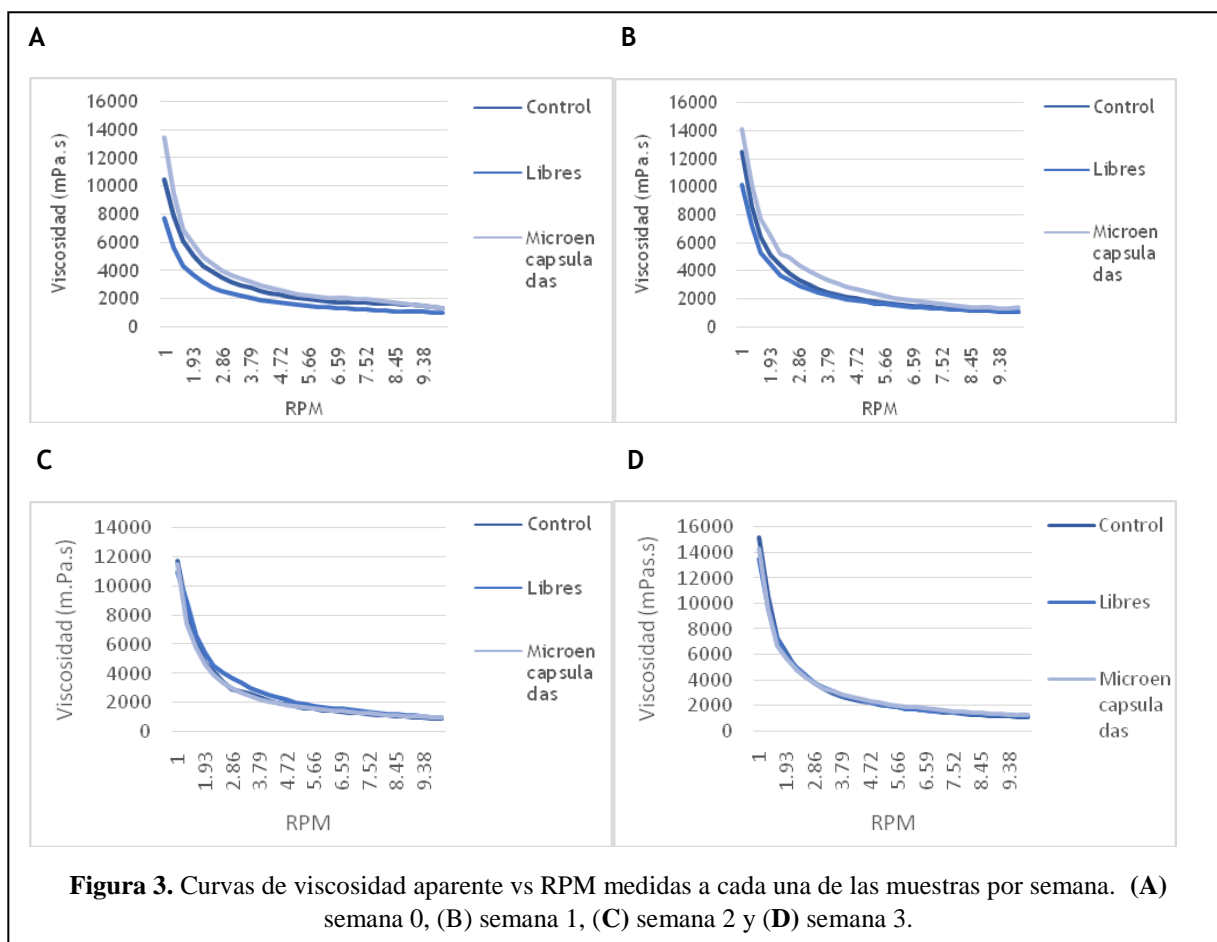
En la Figura 2 se muestra el comportamiento de las bacterias en el yogurt durante su exposición a condiciones simuladas gastrointestinales. Durante la exposición a condiciones gástricas no hubo diferencia significativa en la viabilidad de las bacterias, lo que se atribuye a una adaptación de las bacterias libres al medio ácido durante la fermentación y tiempo de almacenamiento y a características propias de las bacterias lácticas. Al exponer las bacterias a condiciones intestinales simuladas, se puede observar que el cambio de pH en el medio afecta en mayor medida a las bacterias, tanto encapsuladas como no encapsuladas registrándose una disminución en el número de células al inicio del tratamiento. Las bacterias microencapsuladas se mantuvieron estables durante el resto del tiempo (4h) de la exposición, registrándose una reducción total del número de bacterias de 2.35 Log UFC mL<sup>-1</sup> mientras que en las bacterias libres esta reducción fue casi del doble (4.32 Log UFC mL<sup>-1</sup>). La microencapsulación tuvo un efecto protector a las bacterias probióticas tanto en el almacenamiento como en el experimento de condiciones simuladas del tracto gastrointestinal. Este efecto ha sido reportado por otros autores (Dimitrellou *et al.*, 2016).



### Evaluación de la viscosidad aparente

Como se puede observar en la figura 3, los valores de viscosidad aparente de las muestras de yogurt disminuyeron a medida que se incrementó la velocidad de corte (rpm) lo que indica que la muestra tiene un comportamiento de fluido no newtoniano (Pinto *et al.*, 2017). Las mediciones de viscosidad del tiempo cero se realizaron después de 24 horas del proceso de fermentación. El tratamiento

adicionado de células encapsuladas exhibió la mayor viscosidad aparente inicial seguido del tratamiento control. En general se observó una tendencia en los tres tratamientos a incrementar la viscosidad aparente a lo largo del almacenamiento (Fig. 3). El incremento de viscosidad en el yogurt se debe a la agregación de las proteínas provocada por la reducción de la acidez formando así un producto cremoso (Pinto y col., 2017). Un ligero descenso de viscosidad en la segunda semana puede explicarse por la actividad enzimática bacteriana sobre la matriz de caseínas (Wang y col., 2010). Después de 3 semanas de almacenamiento el control mostró la mayor viscosidad seguido del tratamiento con células encapsuladas no siendo significativamente diferentes, mostrando características similares (Fig 3D).



## BIBLIOGRAFÍA

- Charteris W., Kelly P., Morelli L., Y Collins J. 1998. Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic *Lactobacillus* Species. *J.F.P.*, 61(12), 1636-1643.
- Dimitrellou D., Kandylis P., Petrovic T., Dimitrijevic-Brankovic S., Levic S., Nedovic V. y Kourkoutas Y. 2016. Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk. *LWT.*, 71, 169-174.
- Pinto S., Cavalcante B., Verruck S., Alves L., Prudencio E. y Amboni R. 2017. Effect of the incorporation of Bifidobacterium BB-12 microencapsulated with sweet whey and inulin on the properties of Greek-style yogurt. *J Food Sci Technol.*, 54(9), 2804–2813.
- Wang J., Guo Z., Zhang Q., Yan L., Chen Y., Chen X., Liu X., Chen W. y Zhang H. 2010. Effect of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang on fermentation characteristics of set yogurt. *IJDT*, 63, 105-112.
- Zoumpopoulou G., Tzouvanou A., Mavrogonatou E., Alexandraki V., Georgalaki M., Anastasiou R., Papadelli M., Manolopoulou E., Kazou M., Kletsas D., Papadimitriou K. y Tsakalidou E. 2017. Probiotic Features of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Diverse Pool of Traditional Greek Dairy Products Regarding Specific Strain-Host Interactions. *Probiotics y Antimicro. Prot.*, 10, 313–322.