

## LACTOSUERO ADICIONADO CON MENTA Y FERMENTADO CON *Lactobacillus acidophilus*: EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA, FÍSICOQUÍMICA Y NUTRIMENTAL <sup>a</sup>

### WHEY ADDED WITH MINT AND FERMENTED WITH *Lactobacillus acidophilus*: MICROBIOLOGICAL, PHYSICOCHEMICAL AND NUTITIONAL EVALUATION

Valtierra-Méndez, A.J.<sup>1</sup>; Hernández-Valencia, G.L.<sup>1</sup>; Robles-Medina, Y.L.<sup>1</sup>; Rodríguez-Hernández, G.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>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: 06, octubre, 2024

Fecha de publicación: 28, diciembre, 2024

#### Resumen:

El suero de leche es un subproducto lácteo rico en nutrientes con proteínas de alto valor biológico, esto lo hace favorecedor en aminoácidos esenciales, además de contener varios minerales y compuestos bioactivos. Adicionalmente la menta es una planta medicinal con múltiples propiedades benéficas. Es por ello, que se optó a realizar una bebida a base de lactosuero y menta. Además, se agregaron los probióticos *Lactobacillus acidophilus* LA-5, los cuales aportan múltiples beneficios para el organismo humano. Se formuló una bebida fermentada inicial o base y a partir de ésta se generaron tres tratamientos, variando su formulación principalmente entre jarabe de menta o infusión de menta y los porcentajes de edulcorantes añadidos. Se evaluaron variables fisicoquímicas, microbiológicas y se seleccionó una de las formulaciones para evaluarse también en términos nutrimentales, la cual obtuvo un promedio en digestibilidad total de proteína del 99%, destacando un aporte de 9 g de proteína por cada 100 mL y 170kcal. Además, la formulación base cumplió con los requerimientos mínimos para ser considerada una bebida probiótica.

**Palabras clave:** bacterias, bebidas, hongos, probióticos, suero de leche.

<sup>a</sup> Proyecto de investigación con financiamiento propio.

**Abstract:**

Whey is a nutrient-rich dairy by-product with proteins of high biological value, this makes it flattering in essential amino acids, in addition to containing several minerals and bioactive compounds. Additionally, mint is a medicinal plant with multiple beneficial properties. That is why it was decided to make a beverage based on whey and mint. In addition, the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA-5 were added, which provide multiple benefits for the human body. An initial fermented or base beverage was formulated and from these three treatments were generated, varying its formulation mainly between mint syrup or mint infusion and the percentages of sweeteners added. Physicochemical and microbiological variables were evaluated and one of the formulations was selected to be evaluated also in nutritional terms, which obtained an average total protein digestibility of 99%, highlighting a contribution of 9 g of protein per 100 mL and 170 kcal. In addition, the base formulation met the minimum requirements to be considered a probiotic drink.

**Keywords:** bacteria, beverages, fungus, probiotics, whey.

**INTRODUCCIÓN**

Las bacterias "buenas" como *Lactobacillus acidophilus* ayudan a descomponer alimentos, absorben nutrientes y combaten los organismos "malos" que causan enfermedades. *L. acidophilus*, es un probiótico y como tal, es capaz de modificar favorablemente la microbiota gastrointestinal, inhibiendo el crecimiento de patógenos y potenciando el funcionamiento del sistema inmunológico. La composición del suero de leche varía según su procedencia y el tipo de queso producido. Sin embargo, en términos generales, consiste en 93.1% de agua, 4.9% de lactosa, 0.9% de proteína cruda, 0.6% de sales minerales, 0.3% de grasa, 0.2% de ácido láctico, además de vitaminas hidrosolubles. El suero lácteo contiene proteínas con un valor nutricional, inclusive más alto que las caseínas, tales como la beta-lactoglobulina, alfa-lactoglobulina, inmunoglobulinas, proteosas-peptonas y enzimas naturales. Por lo anterior, cuando el suero se descarta sin ningún tratamiento, se convierte en contaminante, ya que su materia orgánica, favorece la proliferación de microorganismos, lo que ocasiona alteraciones notables en la calidad del agua contaminada. A pesar de su valor nutricional, casi la mitad, es decir, el 47% del suero de leche, se vierte sin tratar en los sistemas de drenaje, contaminando ríos y suelos y generando así problemas ambientales (Carrillo, 2002).



La menta, científicamente conocida como *Mentha piperita*, es una planta perenne con propiedades aromáticas y medicinales que pertenece a la familia de las Labiadas y se origina en la región mediterránea (Riveros-Pineda *et al.*, 2024).

A lo largo de la historia, además de ser rica en vitaminas A, E y C; ha sido muy apreciada por sus cualidades terapéuticas digestivas, respiratorias y dermatológicas. Por otra parte, en 1991, la FAO implementó un nuevo enfoque que sustituyó al método del PER para determinar el valor porcentual diario de proteína en la etiqueta de alimentos destinados a adultos y niños mayores de un año. En este procedimiento se busca identificar los aminoácidos que conforman las proteínas y su cantidad relativa respecto a la proteína total (normalmente en miligramos por gramo de proteína). Se identifica el aminoácido que está presente en menor cantidad, conocido como el aminoácido limitante, que establece el estándar de la digestibilidad. Posteriormente, se calcula la puntuación de digestibilidad de la proteína mediante el método de Cálculo de Puntaje Químico Corregido por la Digestibilidad Verdadera (PDCAAS) (FAO, 2024). Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo fue formular una bebida de suero de leche, fermentada con el cultivo láctico *Lactobacillus acidophilus* LA-5, adicionada con menta y una digestibilidad proteica significativa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de la menta

#### Obtención del suero y su fermentación

Se pasteurizó la leche de vaca a 65°C por 30 minutos, posteriormente se sostuvo la temperatura a 37°C y se le adicionaron 0.2 g/mL de NaCl (marca ILM) y 0.1 mL/L de renina (marca ILM), se dejó reposar por 30 minutos, se cortó la cuajada, se dejó reposar por 10 minutos y se desueró. Para la formulación de la bebida fermentada se usó 20 % de lactosuero añadiendo 0.1% de cultivo de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (marca Chr. Hansen), se dejó fermentar en una incubadora a una temperatura de 35 °C por 24 horas y se le consideró la formulación base (FB).



## **Tratamientos de las bebidas**

Se realizaron tres tratamientos, con tres lotes cada uno, de los cuales; el Tratamiento 1 (T1), se realizó con 15% de la FB, 1% de jarabe de menta y 1% de sacarosa; El Tratamiento 2 (T2), con 15% de la FB y 1% de jarabe de menta; y el Tratamiento 3 (T3), con 15% de FB, 1% de la infusión de menta, sin adición de sacarosa.

## **Análisis fisicoquímicos**

El lactosuero fue analizado en términos de: densidad, lactosa, proteína, sólidos totales, agua adicionada, punto de congelación, pH y conductividad eléctrica, en el equipo Lactoscan Milk Analizar (Lactoscan SA, Milkotronic Ltd, Bulgaria). Adicionalmente en los tratamientos formulados se midió: pH, por el método de la Norma Mexicana NMX-F-099-1970 con un potenciómetro con membrana de vidrio (HANNA HI 2550); acidez titulable, según la NOM-155-SCFI-2012; e Índice de refracción, acorde a la NMX-F-436-SCFI-2011, con el dispositivo Universal Portátil (Hanna Instruments), para calcular los grados Brix. Todas las variables fueron evaluadas por triplicado.

## **Análisis microbiológicos**

Se desarrollaron en concordancia a las Normas Oficiales Mexicanas: NOM-110-SSA1-1994, para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico; NOM-092-SSA1-1994, de conteo de bacterias mesófilas aerobias en placa; NOM-111-SSA1-1994, para cuantificación de mohos y levaduras en alimentos; y NOM-113-SSA1-1994, para el recuento de bacterias coliformes totales. Todas las variables fueron evaluadas por triplicado.



### **Análisis nutrimentales**

De las formulaciones realizadas (se seleccionó el T1) y acorde a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, se calculó su tabla nutrimental en términos de proteínas, lípidos, carbohidratos y sodio. Adicionalmente a este mismo tratamiento se le calculó el puntaje químico corregido por la digestibilidad verdadera (PDCAAS), acorde a la FAO, (2024) y Suárez-López *et al*, (2006), mismo que evalúa la calidad de las proteínas teniendo en cuenta la digestibilidad mediante análisis del contenido de nitrógeno, calculando el porcentaje proteico, (multiplicando el contenido de nitrógeno por el factor 6.25), además de analizar el contenido de aminoácidos esenciales y determinar la puntuación de estos, se determinó también la digestibilidad para calcular el PDCAAS multiplicando la puntuación de aminoácidos por la digestibilidad verdadera de la proteína.

### **Análisis estadístico**

Se utilizaron los datos recopilados de todas las variables y se empleó el software SAS, (2006) para llevar a cabo un análisis lineal general (utilizando el procedimiento GLM) y un análisis de diferencias de medias por el método de Tukey.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis fisicoquímico**

El suero lácteo obtenido de la leche de vaca (Cuadro 1), coincide con los valores referidos por el PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2012. Adicionalmente, la bebida fermentada base (FB), presentó  $3.98 \pm 0.00$  de pH y  $2.82 \pm 0.01$  de °Brix, es decir partiendo de estos parámetros al generar los tratamientos, como se puede apreciar en el Cuadro 2, se presentan diferencias significativas entre éstos para ambas variables, siendo el T1 el de mayor pH y °Brix (dulzor). Adicionalmente, comparándolos con los presentados por Ruiz-Díaz *et al.*, (2020), con bebidas de lactosuero y maracuyá muestra que coinciden los valores reportados en términos de °Brix y pH.



**Cuadro 1.** Análisis fisicoquímico de suero de leche de vaca.

**Table 1.** Physicochemical analysis of cow's milk whey.

Variables	Valores
Densidad (g/ml)	1.03 ± 0.02
Sólidos (g/L)	0.64 ± 0.00
Lactosa (g/L)	4.29 ± 6.66
Sólidos totales (g/L)	7.81 ± 0.00
Proteína (g/L)	2.88 ± 5.91
Agua adicionada (g/L)	8.78 ± 0.024
Punto de congelación (°C)	-0.47 ± - 6.60
pH	4.21 ± 0.00
Conductividad (mS/cm)	6.30 ± 0.00

**Cuadro 2.** Parámetros fisicoquímicos de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus* LA-5.

**Table 2.** Physicochemical parameters of fermented beverages with *L. acidophilus* LA-5.

Tratamientos	pH	°Brix
1	3.54 ± 0.00 <sup>a</sup>	27.53 ± 0.25 <sup>a</sup>
2	3.49 ± 0.00 <sup>b</sup>	7.13 ± 0.05 <sup>b</sup>
3	3.49 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.20 ± 0.10 <sup>c</sup>

Tratamientos: T1 bebida con jarabe de menta, T2 bebida con infusión de menta y sacarosa, T3 bebida con infusión de menta sin sacarosa. <sup>ab</sup> Literales diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

### Análisis microbiológicos

Se requiere al menos una concentración de bacterias probióticas de  $1 \times 10^6$  UFC/mL en bebidas fermentadas (Velázquez-López *et al.*, 2018; NOM-181-SCFI-2010), por tanto, según los resultados obtenidos (Cuadro 3), este criterio se cumple al observar el resultado de la cuantificación de bacterias mesófilas aerobias, es decir donde se incluye el probiótico inoculado, *Lactobacillus acidophilus*. Adicionalmente, de acuerdo con lo dispuesto en la NOM-185-SSA1-2002, para productos lácteos fermentados y acidificados, el máximo permitido para coliformes totales es de 10 UFC/mL, y en la NOM-243-SSA1-2010, para productos lácteos, el límite máximo de mohos y levaduras es de 500 UFC/mL, por tanto, se cumplió también con ambos parámetros.

**Cuadro 3.** Cuantificación de bacterias mesófilas aerobias, bacterias coliformes totales, mohos y levaduras en la formulación base (FB) de la bebida de lactosuero fermentado con *Lactobacillus acidophilus*.

**Table 3.** Quantification of aerobic mesophilic bacteria, total coliform bacteria, molds and yeasts in the base formulation (BF) of the fermented whey beverage with *Lactobacillus acidophilus*.

	Bacterias mesófilas aerobias	Bacterias coliformes totales	Mohos y levaduras
Concentración (UFC/mL)	4000000 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Lineamientos de Normativas Oficiales Mexicanas (UFC/mL)	≥1000000*	≤10**	≤500***

\*NOM-181-SCFI-2010), mínimo de cultivos lácticos para bebidas fermentadas como el yogurt. \*\*NOM-185-SSA1-2002, límite para bacterias coliformes totales en productos lácteos fermentados y acidificados. \*\*\*NOM-243-SSA1-2010, límite para mohos y levaduras en productos lácteos.

### Análisis nutrimentales

La información nutrimental se realizó basándose en 100ml, cantidad oficial que recomienda la NOM-051-SCFI/SSA1-2010. En el Cuadro 4, se muestra la declaración nutrimental de la bebida fermentada sabor a menta, correspondiente al T1, la cual, se seleccionó como el mejor de los tres tratamientos, por tener un pH más alto y mayor cantidad de dulzor (Cuadro 2). En este sentido la bebida cumple con los parámetros establecidos por la norma referida con anterioridad, sin embargo, presenta un exceso de calorías, por tanto, el etiquetado de esta bebida tendría que llevar el ícono correspondiente a esta alerta al consumidor. Adicionalmente para el PDCAAS, referido en la Cuadro 5, donde se desglosa el aporte de lactosuero y de la menta contenidos en la bebida fermentada, resaltando la presencia de los aminoácidos lisina, treonina y triptófano. Adicionalmente, la bebida (T1) muestra una digestibilidad total de proteína del 99% teniendo como aminoácidos limitantes a los azufrados.

**Cuadro 4.** Etiquetado nutrimental de una bebida de lactosuero adicionado con menta y fermentado con *Lactobacillus acidophilus*.

**Table 4.** Nutritional labeling of a whey drink added with mint and fermented with *Lactobacillus acidophilus*.

Declaración nutrimental por 100 mL	
<b>Contenido energético</b>	170kcal (682kj)*
<b>Proteínas</b>	9g
<b>Grasa Totales</b>	5g
Grasas Saturadas	0.5g
Grasas Trans	0g
<b>Hidratos de carbono disponibles</b>	150g
Azúcares	150g
Azúcares añadidos	16.74g
Fibra dietética	0g
<b>Sodio</b>	30mg

\*Exceso de calorías acorde a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010.

**Cuadro 5.** Cálculo de Puntaje Químico Corregido por la Digestibilidad Verdadera (PDCAAS) de una bebida de lactosuero adicionado con menta y fermentado con *Lactobacillus acidophilus*.

**Table 5.** Calculation of True Digestibility Corrected Chemical Score (PDCAAS) of a mint-added whey beverage fermented with *Lactobacillus acidophilus*

Alimento	Peso en (g)	Proteína en 100g	Lis	AAs	Tre	Trip	Factor de Digestibilidad	Proteína	Lis	AAs	Tre	Trip
Lactosuero	150	20	91	22	43	23	1	3	273	66	129	69
Menta Fresca	10	0.12	161	53	154	58	0.1	0.01	1.61	0.53	1.54	0.58
<b>TOTALES</b>								<b>3.01</b>	<b>274.93</b>	<b>66.53</b>	<b>130.50</b>	<b>69.58</b>
Aminoácidos mg/g de proteína (total de cada aminoácido/total de proteína)									<b>91.27</b>	<b>22.12</b>	<b>43.44</b>	<b>23.13</b>
Patrón de referencia en mg/g de proteína (niños de 10-12 años)			<b>44</b>	<b>22</b>	<b>28</b>	<b>9</b>						
Score de la mezcla Aminoácidos de Proteína dividido por el de referencia									2.07	1.00	1.55	2.57
Factor Digesto. Promedio de la digestibilidad verdadera.												
Suma de (proteína x factor (PxG) dividida por la proteína total)								0.99				
<b>PDCAAS Score ajustado por la digestibilidad (0.99*1.00)</b>								<b>0.99</b>	<b>100%</b>			

Donde: Lis (lisina), AAs (aminoácidos azufrados), Tre (treonina), Trip (triptófano).





## CONCLUSIÓN

El suero de leche, aunque altamente nutritivo y benéfico para la salud, no es consumido regularmente, por tanto, puede ser aprovechado para crear una bebida con aditivos naturales como la menta y fermentado con probióticos como *Lactobacillus acidophilus*, misma que cumplió con el estándar de mínimo  $10^6$  UFC/mL de cultivos lácticos viables y adicionalmente presenta un buen aporte nutrimental, destacando una alta digestibilidad de la proteína. Por tanto, para el presente estudio se recomienda continuar con el análisis de la formulación planteada ya que presenta gran potencial como alimento funcional, continuando con una evaluación sensorial para observar el nivel del agrado ante los consumidores, ya que representa un reto el agrado del sabor del lactosuero al formular en base a éste.

## Agradecimientos

Se agradece a la empresa CHR HANSEN DE MÉXICO S.A DE C.V., por la donación del cultivo iniciador usado en el presente estudio *Lactobacillus acidophilus* LA-5.

## LITERATURA CITADA

- Carrillo, A.J.L. (2002). Tratamiento y reutilización del suero de leche. *Con-versus*, 10, 27-30.
- FAO. (2011). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Reporte: Dietary protein quality evaluation in human nutrition. 92, 1-79.
- NMX-F-092-1970. Normas mexicanas. Calidad para quesos procesados. Dirección general de normas México.
- NMX-F-099-1970. Normas mexicanas. Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados. Dirección general de normas México.
- NMX-F-436-SCFI-2011. Normas mexicanas. Industria azucarera y alcoholera. Determinación de grados brix en jugos de especies vegetales productoras de azúcar y materiales azucarados - método del refractómetro.
- NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Norma Oficial Mexicana. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-información comercial y sanitaria.
- NOM-092-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.



- NOM-110-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-111-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- NOM-113-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- NOM-155-SCFI-2012. Norma Oficial Mexicana. Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- NOM-185-SSA1-2002. Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Mantequilla, cremas, producto lácteo condensado azucarado, productos lácteos fermentados y acidificados, dulces a base de leche. Especificaciones sanitarias.
- NOM-243-SSA1-2010. Norma Oficial Mexicana Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- NOM-243-SSA1-2010. Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2012. Proyecto de Norma Mexicana. Sistema producto leche – alimentos – lácteos – suero de leche (líquido o en polvo) - especificaciones y métodos de prueba. Organismo nacional de normalización del Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados (COFOCALEC) 2012.
- Riveros-Pineda, M.E., Martínez-Brítez, F.J., López-Talavera C.A., & Zelada-Cardozo N.J. (2024). Producción y rentabilidad de la menta (*Mentha x piperita* L.) con coberturas orgánicas e inorgánicas de suelo. *Investigación agraria*, 26, 1, 29-33. <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2024.junio.2601791>
- Ruiz-Díaz, F., Cabrera Bustamante, F.A., Pérez, R.P., & Miranda, G.R. (2020). Formulación de una bebida a base de lactosuero con sabor a maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.). *Nor@ndina*, 1(2), 88–93. <https://doi.org/10.37518/2663-6360X2020v1n2p88>
- SAS. (2006). JMP V.9.0. USA: Statistical Discovery from SAS Institute.
- Suárez-López, M.M., Kizlansky, A., & López, L.B. (2006). Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el score de aminoácidos corregido por digestibilidad. *Nutrición hospitalaria: órgano oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral*, 21(1), 47–51.
- Velázquez-López, A., Covatzin-Jirón, D., Toledo-Meza, M. D., & Vela-Gutiérrez, G. (2018). Bebida fermentada elaborada con bacterias ácido-lácticas aisladas del pozol tradicional chiapaneco. *CienciaUAT*, 13(1), 165-178. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i1.871>

