

# EL ROL DE LOS ACEITES ESENCIALES EN LOS PROCESOS FERMENTATIVOS DE LACTEOS: ELABORACIÓN DE YOGUR CON ACEITE ESENCIAL DE NARANJA

Cravero Ponso, C. F.<sup>1</sup>; Juncos, N. S.<sup>2,3</sup>; Olmedo, R. H.<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Laboratorio de Lactología / Producción de Leche. Córdoba. Argentina.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Laboratorio de Tecnología de Alimentos (LabTA) / Química Biológica. Córdoba. Argentina.

<sup>3</sup>CONICET. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV). Córdoba. Argentina.

<sup>4</sup>CONICET. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC). Córdoba. Argentina.

craverocarolina@agro.unc.edu.ar

## RESUMEN

Los productos lácteos son una familia de alimentos ampliamente utilizados a nivel mundial como parte de la alimentación básica de la población. Una de las ventajas que presentan los derivados lácteos fermentados es la capacidad de tener altas concentraciones de microorganismos probióticos, ya sea como medio de soporte de los mismos o como microorganismos que participan en la definición final del producto elaborado (yogur). Dentro de los microorganismos probióticos comerciales para la elaboración de leche fermentada (yogur) se encuentran principalmente *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus* que poseen propiedades positivas en la interacción con el hospedador a nivel intestinal (microbiota). Por otra parte, los aceites esenciales son un conjunto de compuestos químicos derivados de los vegetales de características terpénicas, los cuales presentan capacidad de conferir olor y sabor a los alimentos, a su vez poseen otras propiedades como compuestos bioactivos. La utilización de los mismos en los productos lácteos, puede colaborar con la inhibición del desarrollo de microorganismos patógenos o no deseados, como a su vez también, conferir otras funciones benéficas para los consumidores. No obstante ello, resulta necesario evaluar la interacción entre los microorganismos iniciadores y los aceites esenciales con el fin de determinar si la cinética o el proceso de elaboración y maduración de los productos lácteos se ven afectados por dichos agregados. En esa línea de investigación, los laboratorios de Lactología y de Tecnología de Alimentos (LabTA) de la FCA-UNC, están realizando ensayos sobre procesos fermentativos, como la elaboración de yogur con el agregado de aceites esenciales, para establecer la relación entre los mismos. En este artículo, se presenta un estudio realizado sobre los efectos bactericida y/o bacteriostático del aceite esencial de naranja sobre los cultivos de uso comercial para la elaboración de yogur.

Palabras clave: bacterias ácido-lácticas, aditivos naturales, fermentación de lactosa, propiedades funcionales, probióticos.

## INTRODUCCIÓN AL DESARROLLO DE PRODUCTOS LÁCTEOS

La evolución de la sociedad hacia una adquisición y un consumo de alimentos con mayor nivel de información, ha llevado a que en los últimos años se genere un mayor interés sobre los alimentos que se ingieren, particularmente referidos a su calidad, origen y los posibles efectos que podrían causar sobre la salud: relacionado a factores agudos (toxicidad) o crónicos (a largo plazo).

Los cambios en los hábitos alimentarios hacen que hoy en día, los adquirientes, busquen alimentos de fuentes naturales e ingredientes naturales (sin la utilización de ingredientes de características químicas ajenas a los

alimentos). Además tiene preferencias por alimentos que hayan sido mínimamente procesados, con mayor vida útil, que sean nutritivos o generen algún efecto benéfico para el organismo (alimentos funcionales y optimizados). Dentro de este grupo de alimentos con beneficios especiales en la salud se encuentran los probióticos (**Figura 1**), que están íntimamente relacionados con el correcto balance de la población microbiana intestinal (“microbiota saludable”). Los microorganismos utilizados en el proceso fermentativo de la elaboración del yogur, pueden desarrollar una multiplicación del orden de  $1 \times 10^7$  microorganismos/mL; éste crecimiento de la población microbiana hace descender el pH, y a consecuencia de ello precipitan las caseínas lográndose conferir espesamiento y/o

viscosidad al producto. En la elaboración del yogur se utilizan las cepas *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius subsp.*

*Thermophilus*, conocidos como cultivos iniciadores (en inglés starter) (Figura 2).



Figura 1. Aspectos técnicos que debe cumplir un microorganismo probiótico de característica comercial-industrial.

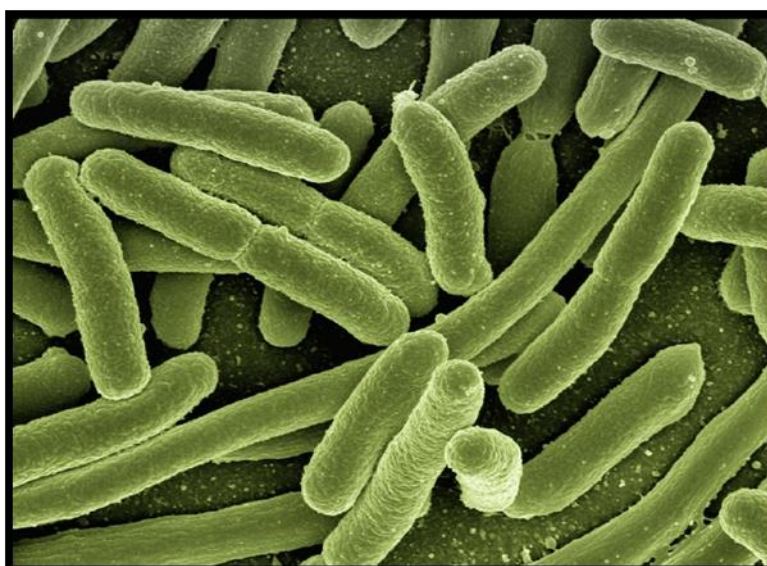


Figura 2. Aspecto visual de la bacteria del Género *Lactobacillus* - Familia *Lactobacillaceae* (bacterias ácido-lácticas).

En términos generales los microorganismos probióticos cumplen roles como facilitar la digestión, hidrolizar la lactosa, mejorar la asimilación de proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales. Estos

microorganismos también se utilizan en la elaboración de nuevos productos y también como conservantes de los alimentos. En tal sentido, los consumidores han considerado al yogur como un producto "saludable".

Muchas formulaciones de yogur contemplan una combinación de fuentes de nutrientes de origen animal (el yogur propiamente dicho) y el agregado de ingredientes de origen vegetal, conocidos como prebióticos, para incrementar el crecimiento de bacterias ácido-lácticas y su viabilidad. La incorporación de nuevos ingredientes durante la elaboración del yogur implica que se mantengan o mejoren las propiedades fisicoquímicas, sensoriales y nutricionales. Muchos de los yogures comercializados utilizan saborizantes naturales o sintéticos; en tal sentido la incorporación de aceites esenciales son una alternativa natural, que además de conferir sabor, presentan actividad biológica, antioxidante, antibacteriana, antimicótica, entre otras, incrementando de ésta manera la funcionalidad del alimento.

### BENEFICIOS DE LAS BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS

El término probiótico, fue originalmente referenciado al fenómeno observado cuando dos organismos eran cultivados juntos, en donde la sustancia producida por uno de los organismos estimulaba el crecimiento del otro (simbiosis). Posteriormente el término se utilizó para describir las preparaciones de células microbianas vivas que se administran a personas con la meta de promover la salud de los consumidores. El Dr. Iliá Ilich Méchnikov, microbiólogo ruso – ucraniano, ganador del premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1908, trabajando en el Instituto Pasteur en París, definió por primera vez la concepción moderna de probiótico como un agente biológico que interacciona con el consumidor mejorando su salud.

Por definición, un probiótico es considerado un suplemento alimentario microbiano vivo que afecta beneficiosamente al hospedador mejorando el balance microbiano intestinal (microbiota); en ésta se han identificado hasta 100.000 microorganismos diferentes, con un conteo aproximado de hasta  $10^{14}$  microorganismos (téngase en cuenta que el cuerpo humano tiene en promedio  $10^{12}$  células). Del total de microorganismos identificados, 30 a 40 especies representan aproximadamente el 90% del total de los microorganismos de la microbiota (Tannock, 1997).

Los probióticos que están presentes en la microflora intestinal, colaboran en el desarrollo del sistema inmune, en la regulación del metabolismo, en el control del sistema neuroendocrino, la homeostasis celular, la generación de control energético con ácidos grasos de cadena corta y como un sistema de prevención de infecciones. Dentro de este grupo se encuentra la familia de las bacterias ácido-lácticas (BAL), siendo las cepas comerciales mayormente utilizadas en los lácteos fermentados como el yogur, los *Lactobacillus*,

*Bifidobacterium* y *Streptococcus*. El desarrollo y colonización intestinal de estas bacterias lácticas permiten la generación de componentes beneficiosos para el hospedador. Por ejemplo, los agentes antimicrobianos (bacteriocinas, reuterinas y antifúngicos), compuestos bioactivos (neuromodulador GABA, antihipertensivos, proteasas, generación de vitaminas), producción de exopolisacáridos funcionales (levanos, inulina y fructanos) y ácidos grasos de cadena corta (láctico, propiónico, acético y butírico). Esto demuestra la gran actividad que ejercen las bacterias lácticas sobre las funciones regulatorias y de protección de los hospedadores, que en este caso son los consumidores (Tannock, 1997).

### ACEITES ESENCIALES EN ALIMENTOS

Los aceites esenciales son extraídos de plantas aromáticas y otros vegetales, contienen compuestos químicos orgánicos y volátiles, formados por varias sustancias como aldehídos, cetonas, entre otras, y son los responsables del aroma característico de las plantas, frutos, flores y hojas que los contienen. En su composición química, se encuentran presentes los terpenoides, sustancias más importantes (mayoritarias) de los aceites esenciales, que en su conjunto confieren las propiedades activas; pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos dependiendo de la composición, lugar de origen, medio en el que se encuentran y técnica de extracción (Arancibia et al., 2013).

Los aceites esenciales más utilizados en la industria de alimentos son el cilantro, la naranja y la menta. Estos se emplean en la elaboración de productos cárnicos, bebidas alcohólicas, bebidas lácteas, jugos, refrescos y confitería. Su uso se ha extendido debido al creciente interés de los consumidores en productos naturales que sustituyan a las sustancias químicas utilizadas como saborizantes o colorantes, debido a las controversias asociadas al uso de aditivos sintéticos. Las dosis que se emplean son similares a los conservantes sintéticos, sin embargo, aún no está totalmente claro el mecanismo de acción de los aceites esenciales, ni sus efectos sensoriales en alimentos (López-Malo et al., 2005; Fisher et al., 2008). Los aceites esenciales presentan bioactividad como: protección frente a patógenos microbianos, capacidad antioxidante para proteger compuestos químicos sensibles de oxidarse, propiedades antiinflamatorias y actividades diuréticas, tónicas y antiespasmódicas, entre otras funciones (Worwood, 2016).

Uno de los aceites esenciales más importantes, se obtiene de la cáscara de naranja, residuo de la agroindustria que contiene alrededor de 1,5% (p/p) de aceite esencial. El mismo, también, puede ser extraído

de las hojas, tallos, flores y residuos de la fruta. El componente mayoritario del aceite esencial de naranja lo constituye el limoneno, que está presente entre un 90-95%; esta molécula posee actividad antimicrobiana, antifúngica, como así también acción repelente sobre insectos (Fisher et al., 2006; Stefanello et al., 2008; Ruiz et al., 2014).

### UTILIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN PRODUCTOS LÁCTEOS

Los componentes bioactivos derivados de los diferentes aceites esenciales frecuentemente tienen actividad



**Figura 3.** Queso deteriorado debido a la acción de hongos indeseables.

Los aceites esenciales mejoran el sabor y el olor de productos lácteos, por ejemplo, en las leches chocolatadas potenciando su sabor con la aplicación de aceite esencial de canela. Asimismo la utilización en la elaboración de quesos, habría demostrado ser útil en detener el crecimiento de los microorganismos de deterioro de dichos productos lácteos. También se ha probado la eficacia de los aceites esenciales como agentes antimicrobianos en productos fermentados, helados, mantecas, crema de leche y en postres (Mishra et al., 2020).

### PROCESO FERMENTATIVO CON EL AGREGADO DE ACEITE ESENCIAL DE NARANJA

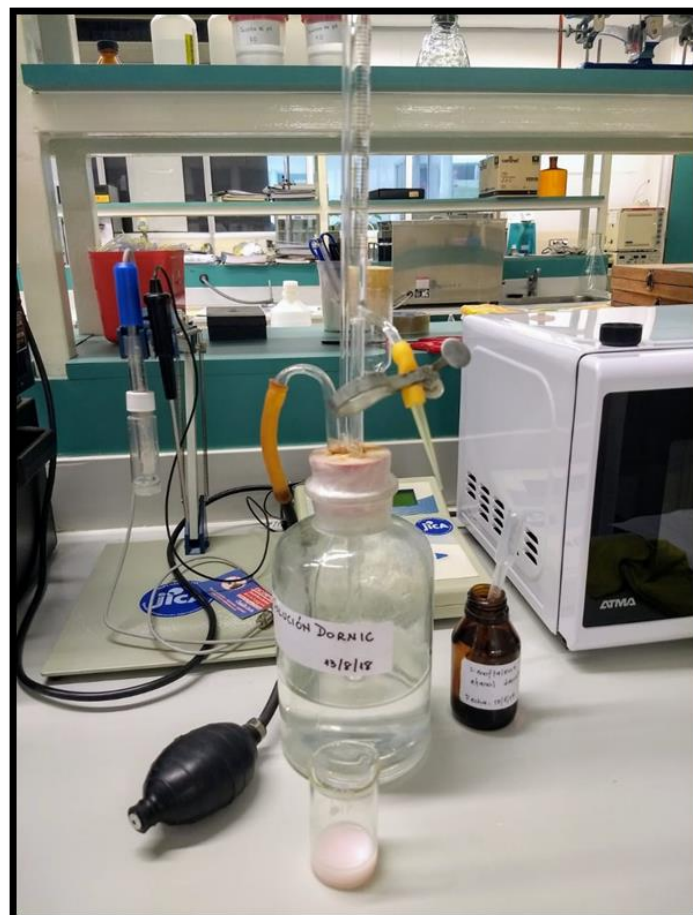
Las bacterias ácido-lácticas homofermentativas constituyen un vasto conjunto de microorganismos benignos, dotados de propiedades similares, que producen principalmente ácido láctico como producto final del proceso de fermentación, que tiene lugar por la transformación de la lactosa (azúcar de leche) en ácido láctico; la acumulación del mismo, durante el proceso fermentativo, va modificando la estructura de las proteínas de la leche haciendo que cambie la textura del producto precipitando el total de las caseínas cuando el pH llega a 4,6 (punto isoeléctrico de las caseínas).

aditiva o efecto sinérgico para la mejora de la fermentación de las bacterias lácticas. Además las actividades antisépticas de los aceites esenciales permiten el control del crecimiento de hongos y levaduras que pueden deteriorar a los productos lácteos (**Figura 3**) como así también inhibir el desarrollo de agentes patógenos. La acción de los aceites esenciales en probióticos contenidos en los productos lácteos necesitan aún de una mayor investigación, a los efectos de confirmar la capacidad de promover el desarrollo de probióticos o por el contrario detener el crecimiento de estos (Mishra et al., 2020).

Basado en los antecedentes sobre los efectos antioxidantes y posibles efectos inhibitorios en los procesos fermentativos en la elaboración de productos alimenticios, en los laboratorios de Lactología y de Tecnología de Alimentos (LabTA) en la FCA-UNC, se llevaron a cabo ensayos referidos a la elaboración de yogur con el agregado de aceite esencial de naranja (composición: 96,54% de limoneno, 1,68% de  $\beta$  pineno, 0,39% de  $\alpha$  pineno y 0,29% de linalool determinado mediante cromatografía de gases con detector de masa) para probar el posible efecto inhibitorio sobre bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus delbrueckii subespecie bulgaricus* y *Streptococcus salivarius subespecie thermophilus*), evaluar la cinética de fermentación y posible potenciador del sabor natural del yogur. A tal efecto se realizaron ensayos, utilizando concentraciones de 0,01% y 0,02% v/v de aceite esencial de naranja en dos sustratos de leche con contenidos diferentes de materia grasa (1,5% y 3%), contrastados con un ensayo en blanco con idéntico sustrato sin el agregado de aceite esencial. La temperatura de los ensayos fue de 40°C con un tiempo de fermentación de 240 minutos (**Figura 4**). Los resultados observados no presentan diferencias en las cinéticas fermentativas medidas en la curva de descenso de pH y de incremento de la acidez titulable durante el tiempo utilizado en el ensayo (**Figura 5**).



**Figura 4.** Ensayo de cinética de fermentación de leche con agregado de aceite esencial de naranja (0,01 y 0,02% v/v).



**Figura 5.** Titulación de ácido láctico como indicador del proceso fermentativo.

A los efectos de evaluar el perfil sávido-aromático generados en la fermentación, se recurrió a la determinación de los productos volátiles mediante la microextracción en fase sólida con fibra (SPME PDMS/PDV), posteriormente inyectados en un

cromatógrafo de gases con detector de masa, para identificar si la composición de volátiles se ven modificados entre el ensayo control y los ensayos con tratamientos con aceite esencial (**Figura 6**).



**Figura 6.** Viales para la determinación de compuestos volátiles de fermentación por medio de cromatografía gaseosa acoplada a detector de masa (CG-MS).

En referencia a la cinética de fermentación, los compuestos identificados como el acetaldehído y el ácido láctico no presentaron diferencia entre el control y los tratamientos. En razón de ello, se puede estimar que el aceite esencial de naranja en las concentraciones utilizadas, no tuvieron efecto bactericida y/o bacteriostático sobre los cultivos de uso comercial en la elaboración del yogur. Basados en el presente ensayo, se continuarán llevando a cabo en conjunto entre los laboratorio de Lactología y Tecnología de Alimentos (LabTA) investigaciones sobre los procesos de fermentación y maduración de diferentes productos lácteos con el agregado de distintos aceites esenciales a los efectos de corroborar la interacción entre ellos, como así también, optimizar el alimento utilizando ingredientes naturales con diversas propiedades positivas sobre las funciones fisiológicas de los consumidores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arancibia, M., Rabossi, A., Bochicchio, P. A., Moreno, S., López-Caballero, M. E., Gómez, M., y Montero, P. 2013. Biodegradable films containing clove or citronella essential oils against the mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Journal of Agriculture and Food Technology*, 3(3), 1-7.
- Fisher, K., y Phillips, C. 2006. The effect of lemon orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 101, 1232-1240.
- Fisher, K., y Phillips, C. 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Food Science and Technology*, 19(3): 156-164.

- López-Malo, A., Palou, E., León-Cruz, R., y Alzamora, S. 2005. Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. *Advances in Food Mycology*, 571(4), 261-286.
- Mishra, A. P., Devkota, H. P., Nigam, M., Adetunji, C. O., Srivastava, N., Saklani, S., Shukla, I., Azmi, L., Shariati, M. A., Melo Coutinho, H. D., y Khaneghah, A. M. 2020. Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. *LWT. Food Science and Technology* 133. 110116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110116>.
- Ruiz, B., y Flotats, X. 2014. Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process. *Science Direct*, Vol. 32, Issue 11. 2063-2079.
- Stefanello, M. E., Cervi, A. C., Ito, I. Y., Salvador, M. J., Wisniewski, A., y Simionatto, E. L. 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Eugenia chlorophyll* (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 20(1), 75-78.
- Tannock, G. W. 1997. Probiotic properties of lactis-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Tibtech*, 15, 270-274.
- Worwood, V. A. (2016). *The complete book of essential oils and aromatherapy, revised and (Ocimum basilicum) oil against Salmonella enteritidis in-vitro and in food. Bioscience expanded: Over 800 natural, nontoxic, and fragrant recipes to create health, beauty, and Biotechnology and Biochemistry*, 74(6), 1200–1204. <https://doi.org/10.1271/ safe home and work environments. USA: New World Librar>.