

Uso de fermentos seleccionados directos en la elaboración de queso cremoso argentino

Candioti, M, Hynes, E., Meinardi, C., Sabbag, N. * y Zalazar, C.

Programa de Lactología Industrial (PROLAIN), *Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA),
Facultad de Ingeniería Química (UNL), Santa Fe



Introducción

El principal papel del fermento láctico en la elaboración de quesos es la acidificación, causada por el metabolismo de la lactosa a ácido láctico. Dicha acidificación mejora la coagulación

de la leche, favorece el proceso de desuerado de la cuajada y preserva el producto final de posteriores contaminaciones. Además de estos roles tecnológicos de gran importancia, las bacterias del fermento también contribuyen al sabor y el aroma del queso durante la maduración, ya que a lo largo de este proceso se lisan liberando enzimas intracelulares y participando en la producción de aminoácidos y otras transformaciones bioquímicas (1).

Inicialmente, los quesos se elaboraban sin fermento, partiendo de leche cruda cuya flora autóctona de bacterias lácticas acidificaba espontáneamente. Este procedimiento se permite aún para ciertos quesos artesanales con denominación de origen. Posteriormente, esta práctica fue sustituida por la adición a la leche pasteurizada de fermentos llamados naturales, que se obtienen por incubación de leche o suero luego de un tratamiento térmico suave, o por fermentos seleccionados, que se cultivan en volúmenes crecientes hasta obtener el inóculo para la tina de quesos. En la actualidad, la mayoría de estos cultivos han sido reemplazados por fermentos seleccionados de adición directa a tina, ya sea liofilizados o congelados. Sin embargo, un número apreciable de establecimientos en nuestro

país siguen utilizando el sistema de leche fermento para quesos blandos, y los quesos duros se siguen fabricando casi exclusivamente con fermentos naturales de suero.

Los nuevos fermentos de adición directa presentan la ventaja de una curva de acidificación constante y no presentan riesgos de contaminaciones microbiológicas. Sin embargo, el número limitado de cepas los hace sensibles a ataques fágicos, y podría ser la causa de un menor desarrollo de los caracteres organolépticos.

El estudio de la tecnología de fabricación y la maduración de quesos elaborados con uno y otro tipo de fermento resulta de gran interés para implementar eventuales modificaciones de tecnología y para conocer la influencia del cultivo en la calidad del producto final.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia de un fermento natural de leche y un fermento seleccionado liofilizado en la fabricación y la maduración de Queso Cremoso Argentino (2).

Materiales y métodos

Elaboración de quesos a escala piloto

Las elaboraciones se realizaron a escala planta piloto. En cada experiencia se utilizaron 130 litros de leche entera, con $3,35 \% \pm 0,05$ de materia grasa y un pH 6,70, pasteurizada en tina a 65°C por 15 min y con el agregado de 0,02 % de CaCl_2 . El total de la leche se dividió en dos fracciones de 65 litros, las que se destinaron a dos elaboraciones en paralelo utilizando en una, leche fermento y en la otra, fermento directo; se obtuvieron de la primera dos quesos testigos y de la segunda dos quesos experimentales, de aproximadamente 4,5 Kg cada uno. La experiencia se repitió tres veces.

La tecnología de elaboración empleada fue idéntica a la que se sigue a nivel industrial. La acidificación

de los quesos se llevó a cabo en el molde hasta un pH de alrededor de 5,15, luego los quesos se salaron por inmersión en salmuera fría (5°C) por 5 h. La maduración se realizó a 6°C y 85% de humedad relativa por 20 días. A los tres días de elaborados, los quesos se envasaron al vacío en bolsas de plástico termocontraíbles (3).

Fermentos

La leche fermento fue proporcionada por una industria cercana. Se obtuvo por incubación a 45 °C de leche tratada térmicamente (63 °C, 5 min), hasta alcanzar una acidez Dornic de aproximadamente 55 °D. Los valores promedio de pH y acidez para las tres experiencias fueron de $5,30 \pm 0,05$ y 54 ± 3 °D, respectivamente. Los recuentos de bacterias mesófilas totales fueron del orden de 10^8 UFC ml⁻¹, mientras que los coliformes totales y los hongos y levaduras nunca superaron las 10^4 y 10^2 UFC ml⁻¹ respectivamente. Este cultivo se agregó a la leche de elaboración a razón de 2,5% v/v.

Como fermento directo se usó una mezcla liofilizada de cepas de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. (STA, Centro Sperimentale del Latte, Milano, Italia).

Análisis

Una vez agregado el fermento, sobre la leche se realizaron determinaciones de pH y materia grasa (4). El tiempo de coagulación (r) y la velocidad de endurecimiento de la cuajada (k10) fueron determinados por medio de un equipo Formagraph (5).

En los quesos con 10 y 20 días de maduración se realizaron recuentos de gérmenes aeróbicos mesófilos totales en agar-leche descremada, incubando 48 hs. a 37 °C (6); hongos y levaduras en agar-YGC incubando 5 a 7 días a 25 °C (6); bacterias coliformes totales determinadas por NMP en caldo Brila incubando 48 hs. a 37 °C (7) y bacterias coliformes termorresistentes determinadas por NMP en caldo Brila incubando 24 y 48 hs. en baño termostático a 44 °C (8).

En los quesos a los 20 días se determinó humedad (9), grado de maduración (10) y se analizó la fracción de nitrógeno insoluble a pH 4,6 por electroforesis

(urea-PAGE) (11). Se calculó el rendimiento, que fue expresado en Kg de queso a la salida de salmuera por 100 litros de leche.

En los quesos al final de la maduración se llevó a cabo una evaluación sensorial en la que participaron ocho panelistas entrenados en la metodología de trabajo (12-14). En una sala ambientada al efecto, las muestras se presentaron en bandejas individuales, se identificaron con números aleatorios de tres dígitos y se evaluaron en dos sesiones los atributos: aroma, color, textura y sabor. Se empleó una escala numérica de 1 a 5 para aroma, color y sabor; para textura se usó una escala de 1 a 10. Los valores medios de cada parámetro para tres elaboraciones fueron comparados estadísticamente por el test de ANOVA de una vía.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran los valores medios de los parámetros analizados en los quesos elaborados con los dos tipos de fermentos. Se puede observar el mayor descenso de pH que provoca la leche fermento con respecto al fermento directo. A causa de esta diferencia, en el primer caso la leche presenta mejores características a la coagulación, al lirado y al desuerado, llegando al moldeado más rápidamente. En la Figura 1 se muestra la evolución del pH durante las elaboraciones de los quesos con los dos tipos de fermentos.

La leche fermento es un cultivo activo, que además del descenso del pH por mezcla -contribución directa del ácido láctico que ya contiene la leche fermento- comienza la acidificación de la leche desde el momento de su agregado. En el caso del fermento directo, las bacterias liofilizadas experimentan un retraso que dura casi hasta el moldeo y que hace que el pH se mantenga constante hasta ese momento. Estas distintas formas de acción traen como consecuencia que cuando se utiliza leche fermento, el trabajo en tina se lleva a cabo a un pH menor.

La evolución del pH luego del moldeo fue similar para ambos quesos, pero la curva para el fermento directo tuvo un retardo de casi una hora, lo que provocó el ingreso del queso a salmuera con ese desfase. Para atenuar esta situación se puede recurrir a hidratar

Tabla I: Parámetros evaluados durante la elaboración de quesos (valores medios y desviaciones estándar de tres elaboraciones).

Tipo de fermento	Cantidad de fermento agregado	Leche adicionada de fermento			Coagulante agregado (ml)	Tiempos a partir del agreg. del coag. (min)			
		pH	Parámetros de coagulación			Coagulación	Lirado	Moldeo	Salado
			r (min)	k10 (min)					
Leche fermento	1650 ml	$6,60 \pm 0,04$	$9,75 \pm 0,50$	$4,50 \pm 0,25$	29	$6 \pm 0,75$	28 ± 2	48 ± 3	197 ± 4
Fermento directo	0,65 g	$6,70 \pm 0,03$	$13,00 \pm 0,75$	$6,75 \pm 0,25$	29	$8 \pm 1,00$	40 ± 4	62 ± 5	255 ± 5

ab Los valores medios dentro la misma columna con diferentes subíndices son significativamente diferentes ($P < 0,05$), de acuerdo con el resultado del test ANOVA.

el fermento liofilizado unos 30 a 45 minutos en leche pasteurizada, antes de agregarlo a la tina. Si embargo esta práctica debe llevarse a cabo en estrictas condiciones de higiene y trabajando con material estéril o enjuagado con solución de hipoclorito, ya que aumenta el riesgo de contaminación.

La Tabla 2 presenta las características fisicoquímicas generales de los quesos elaborados con ambos tipos de fermentos al final de la maduración. En ella se observa que la humedad de los productos en los que se usó fermento directo es ligeramente mayor, hecho que puede atribuirse a que en la tina de elaboración el pH más elevado desfavorece el desuerado. El índice de maduración es mayor para los quesos elaborados con leche fermento, lo que puede atribuirse a una mayor actividad proteolítica del fermento natural. En efecto, este cultivo está constituido por un gran número de cepas salvajes, entre las cuales es posible que haya algunas de alta capacidad proteolítica. Los rendimientos no fueron significativamente diferentes.

La electroforesis del residuo caseínico insoluble a pH 4,6 manifiesta una degradación ligeramente mayor de la caseína α_{S1} para dar el péptido α_{S1-I} en los quesos elaborados con leche fermento, lo que resulta coherente con el mayor grado de maduración. En efecto, ha sido demostrado que la mayor parte de los péptidos solubles a pH 4,6 provienen de la degradación de la caseína α_{S1} , entre ellos el péptido α_{S1} (f1-23), complementario del péptido α_{S1-I} .

Los recuentos microbiológicos realizados en la cuajada obtenida con leche fermento indicaron que los hongos y levaduras y las bacterias coliformes son siempre un orden superior a los de las cuajadas de fermento directo. Sin embargo, a causa de la competencia generada por la evolución de las bacterias lácticas durante la maduración, al final de la misma se obtuvieron recuentos similares en hongos, levaduras y bacterias coliformes para los dos tipos de quesos. En todos los casos los recuentos de coliformes totales y resistentes a 45 °C fueron inferiores en dos órdenes a los máximos aceptados por el Código Alimentario Argentino (CAA) (Reglamento Técnico General Mercosur de Identidad y Calidad de Quesos).

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la evaluación sensorial. En ella figuran los valores medios de los atributos para las muestras ensayadas. La puntuación es elevada para todos los atributos analizados, lo que indica que los quesos elaborados con los dos tipos de fermentos son de buena calidad. También se deduce que no existen diferencias significativas para aroma y color. En la textura y sabor, en cambio, el queso con fermento directo fue significativamente superior, ya que el queso con leche fermento fue poco consistente, muy posiblemente a causa del mayor nivel de proteólisis. El queso elaborado con fermento directo tuvo además mayor puntuación para sabor.

Conclusiones

El reemplazo del fermento natural de leche por uno de adición directa a tina provoca modificaciones, que se detallan a continuación:

- Durante la fabricación, el trabajo en tina se hace a un pH más elevado, lo que dificulta el desuerado. Esta particularidad hace que se obtengan quesos con ma-

Figura 1: Evolución del pH durante la fabricación de quesos con distintos fermentos. 1- pasteurización y enfriamiento a la temperatura de elaboración, 2- agregado de cloruro de calcio, 3- agregado de fermento, 4- agregado de coagulante, 5- lirado, 6- moldeado, 7- entrada a salmuera. Símbolos llenos: fermento directo, símbolos vacíos: leche fermento.

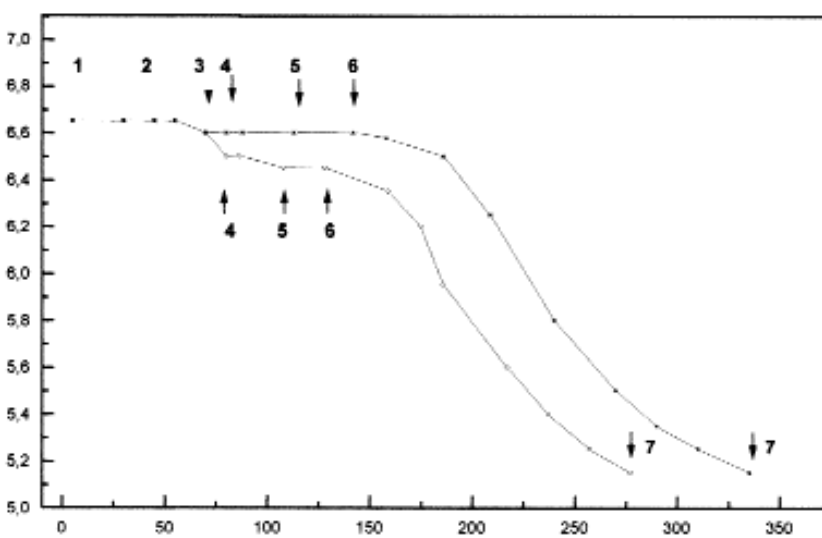


Tabla II: Características fisicoquímicas generales de los quesos al final de la maduración (valores medios y desviaciones estándar de tres elaboraciones).

Parámetros	Tipo de Fermento	
	Leche fermento	Fermento directo
Humedad %	53,21 ± 0,46	54,85 ± 0,58
Grado de maduración	14,57 ± 0,38	11,90 ± 0,32
Rendimiento (Kg/100 l leche)	14,05 ± 0,15	14,10 ± 0,20

Tabla III: Características sensoriales de los quesos al final de la maduración.

Tipo de fermento	Atributo			
	Aroma	Color	Textura	Sabor
Leche fermento	4,66 a	4,91 a	7,23 a	4,06 a
Fermento directo	4,98 a	4,95 a	9,35 b	4,54 b

por contenido de humedad, si no se realizan los cambios necesarios en la tecnología de elaboración.

- Los quesos fabricados con fermento directo ingresan a salmuera aproximadamente una hora después de los quesos con leche fermento, debido a que este tipo de cultivo no aporta ácido láctico en forma directa y requiere un tiempo para hidratarse y comenzar a metabolizar la lactosa.
- Si bien los quesos elaborados con ambos fermentos resultaron de buenas características, los elaborados con fermentos directos tuvieron un sabor descrito como más "limpio" y una mejor textura.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración de las firmas Milkaut Coop. Ltda. y Diagramma S.A.. Expresan asimismo su reconocimiento al Técnico Agustín Ceresoli por el apoyo prestado en la realización del presente trabajo.

Bibliografía

- 1) Hynes, E.** (1998) Estudio de la proteólisis durante la maduración de quesos blandos. Cremoso Argentino. Tesis doctoral, Fac. de Ing. Química, Univ. Nac. del Litoral
- 2) Código Alimentario Argentino Actualizado** (1998) Art. 622 y Reglamento Técnico General Mercosur de Identidad y Calidad de Quesos. De La Canal y Asociados S.R.L. Buenos Aires, Argentina.
- 3) Zalazar, C. A., Meinardi, C. A. e Hynes, E.** (1999) Quesos Típicos Argentinos, pags.21-26 Centro de Publicaciones (UNL), Santa Fe, Argentina.
- 4) Bradley, R.L.; Arnold, E.; Barbano, D.M.; Semevad, R.G.; Smith, D.E. and Vines, B.K.** (1993) Chemical and physical methods, en Standard Methods for the Examination of Dairy Products, pags. 437-440 y 465-469. Marshal editor. 16th edition, APHA, Washington, USA.
- 5) Zalazar, C. A.; Meinardi, C. A. and Basualdo, S.** (1995) Comparison of chymosin produced by genetically modified microorganisms with other milk clotting agents using Formagraph. Microbiologie-Aliments-Nutrition 13, 183-189.
- 6) FIL-IDF 100B:** 1991 Latte e derivati del latte. Numerazione dei microrganismi. Conta delle colone a 30 °C. Norme FIL-IDF definizioni, metodiche di analisi e di prelievo del latte e derivati. Parte IIIa Reggio Emilia, Italia.
- 7) Frank, J.F.; Christen, G.L.; Bullerman, L.B.** (1993) Test for groups of microorganism, en Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Marshal editor. 16th edition, APHA, Washington, USA.
- 8) FIL-IDF 73:** 1974. Latte e prodotti lattieri, conta dei batteri coliformi. Norme FIL-IDF definizioni, metodiche di analisi e di prelievo del latte e derivati. Parte IIa Parma, Italia.
- 9) FIL-IDF 4A:** 1982 Formaggio e formaggio fuso. Determinazione della materia secca. Metodo di riferimento. Norme FIL-

IDF definizioni, metodiche di analisi e di prelievo del latte e derivati. Parte IIIa Reggio Emilia, Italia.

10) Gripon, J.; Desmazeaud, M.; Le Bars, Bergere, J.; Etude du role des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Le Lait 548, 503-515.

11) Andrews, A. T. (1983) Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. Journal of Dairy Research 50, 45-55

12) Amerine, M. A.; Pangborn, R., M. and Roessler, E. B. (1965) Principles of Sensory Evaluation of Foods. New York and London: Academic Press.

13) Costell, E., Duran, L. (1981). El análisis sensorial en el control de la calidad de los alimentos. I. Introducción. II. Planeamiento y planificación: Selección de pruebas. III. Planificación, selección de jueces y diseño estadístico. Rev. Agroquím. Tecn. Alimentos 21, 1-10, 149-166 y 454-470.

14) Stone, H.; Sidel, J.; Oliver, S.; Swoolste, A. and Singleton, R. C. (1974). Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. Food Technol. 28, (11), 2-7.

