

# Avances y tendencias en la industria láctea

La contribución argentina  
desde el INLAIN



Jorge Reinheimer  
Editor

ediciones UNL





**UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
DEL LITORAL**

Rector **Enrique Mammarella**

Secretario de Planeamiento Institucional y Académico **Miguel Irigoyen**

Decano Facultad de Ingeniería Química **Adrian Bonivardi**

.....

Avances y tendencias en la industria láctea :  
la contribución argentina desde el INLAIN / Jorge  
Reinheimer ... [et al.] ; editado por Jorge Reinheimer.  
—1a ed.— Santa Fe : Ediciones UNL, 2021.  
Libro digital, PDF - (Ciencia y tecnología)

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-749-216-3

1. Industria Química. 2. Lácteos. 3. Bioquímica. I.  
Reinheimer, Jorge II. Reinheimer, Jorge, ed.

CDD 540

.....

© Reinheimer, Ale, Audero, Bergamini,  
Binetti, Briggiler Marcó, Burns, Candiotti, Capra,  
Chiericatti, Costabel, Cuffia, Frisón, George, Giménez,  
Guglielmotti, Hynes, Lloréns, Meinardi, Mercanti, Páez,  
Peralta, Perotti, Pujato, Quiberoni, Rebechi, Suárez,  
Vaudagna, Vélez, Vénica, Vinderola, Wolf, 2021.  
Colaboradora: Ma. Sol Ortiz, 2021.

©  ediciones UNL, 2021

—  
editorial@unl.edu.ar

www.unl.edu.ar/editorial

Consejo Asesor  
Colección Ciencia y Tecnología

**Graciela Barranco**

**Ana María Canal**

**Miguel Irigoyen**

**Luis Quevedo**

**Gustavo Ribero**

**Ivana Tosti**

**Alejandro R. Trombert**

Dirección Ediciones UNL

**Ivana Tosti**

Coordinación editorial

**María Alejandra Sadrán**

Coordinación diseño

**Alina Hill**

Corrección

**Félix Chávez**

Diagramación interior y tapa

**Nicolás Vasallo**

—



# Avances y tendencias en la industria láctea

La contribución argentina  
desde el Instituto de Lactología  
Industrial (INLAIN)

Jorge Reinheimer

Editor

Elisa Ale · Gabriela Audero · Carina Bergamini · Ana Binetti ·  
Mariángeles Briggiler Marcó · Patricia Burns · Mario Candiotti ·  
Ma. Luján Capra · Carolina Chiericatti · Luciana Costabel · Facundo  
Cuffia · Laura Frisón · Guillermo George · Paula Giménez · Daniela  
Guglielmotti · Erica Hynes · Desireé Lloréns · Carlos Meinardi ·  
Diego Mercanti · Roxana Páez · Guillermo Peralta · Ma. Cristina  
Perotti · Silvina Pujato · Andrea Quiberoni · Silvina Rebechi · Viviana  
Suárez · Sergio Vaudagna · Ma. Ayelén Vélez · Claudia Vénica ·  
Gabriel Vinderola · Irma Wolf



COLECCIÓN  
CIENCIA Y TECNOLOGÍA

# Índice

Introducción / 6

## **LECHES FERMENTADAS / 7**

### **1. Desarrollo de leches fermentadas con probióticos / 8**

*Gabriel Vinderola y Jorge Reinheimer*

### **2. Funcionalización de leches fermentadas / 28**

2.1. Yogur reducido en lactosa e incrementado  
en galactooligosacáridos (GOS) prebióticos / 28

*Claudia Vénica, Carina Bergamini, Verónica Wolf y Ma. Cristina Perotti*

2.2. Yogur enriquecido en caseinofosfopéptidos (CPP) / 43

*Carina Bergamini, Verónica Wolf y Ma. Cristina Perotti*

2.3. Ácido linoleico conjugado (CLA) en yogur  
y formulación de un ingrediente alto CLA / 51

*Ayelén Vélez, Silvina Rebechi, Erica Hynes,*

*Leila Pozza, Verónica Wolf y Ma. Cristina Perotti*

### **3. Mohos productores de gas y *Gluconobacter*: nuevos alterantes microbianos en yogures argentinos / 59**

*Ma. Luján Capra, Laura Frisón, Carolina Chiericatti,*

*Ana Binetti y Jorge Reinheimer*

## **QUESOS / 70**

### **1. Análisis crítico de la influencia de las etapas de elaboración quesera sobre el rendimiento y la calidad del producto / 71**

*Carlos Meinardi y Mario Candiotti*

### **2. Caracterización de quesos típicos argentinos / 91**

*Verónica Wolf, Susana Palma, Carina Bergamini y Ma. Cristina Perotti*

### **3. Estrategias tecnológicas para acelerar la maduración y diversificar el flavor de quesos duros / 106**

3.1. Tratamientos físicos aplicados durante  
el proceso de elaboración / 107

*Ma. Ayelén Vélez, Ma. Cristina Perotti, Luciana Costabel, Mario Candiotti, Leila*

*Pozza, Susana Palma, Carlos Meinardi, Verónica Wolf,*

*Carina Bergamini y Erica Hynes*

3.2. Tratamientos físicos aplicados durante  
el proceso de maduración / 117

*Luciana Costabel, Carina Bergamini, Erica Hynes y Sergio Vaudagna*

3.3. Diseño de fermentos primarios y adjuntos / 124

*Facundo Cuffia, Carina Bergamini, Verónica Wolf, Guillermo George, Erica Hynes y Ma. Cristina Perotti*

**4. Cultivos adjuntos de quesería**

**a partir de cepas de origen NSLAB / 135**

*Guillermo Peralta, Carina Bergamini, Verónica Wolf, Mario Candiotti, Ma. Gabriela Audero, Rosana Páez, Paula Giménez, Ma. Cristina Perotti y Erica Hynes.*

**5. Tendencias y desafíos en la producción de quesos frescos de pasta hilada / 149**

*Facundo Cuffia, Guillermo George, Jorge Reinheimer, Carlos Meinardi y Patricia Burns.*

**6. Exopolisacáridos (EPS) de *Lactobacillus fermentum*: nuevos ingredientes alimentarios con doble rol tecnológico y funcional para productos lácteos / 164**

*Elisa Ale, Jorge Reinheimer y Ana Binetti*

**7. Fosfatos como antimicrobianos y antivirales en la industria láctea. Uso como antifúngico en quesos de mediana y larga maduración / 179**

*Viviana Suárez, Jorge Reinheimer y Carlos Meinardi*

**8. Microorganismos alterantes en la industria láctea. Incidencia regional en los últimos 20 años / 196**

*Daniela Guglielmotti, Viviana Suárez, Ana Binetti, Diego Mercanti, Andrea Quiberoni, Desireé Lloréns, Mariángeles Briggiler Marcó, Ma. Luján Capra, Patricia Burns y Jorge Reinheimer*

**9. Fagos en la industria láctea: problemática actual y metodologías alternativas para disminuir su incidencia / 209**

*Diego Mercanti, Silvina Pujato, Ma. Luján Capra, Daniela Guglielmotti, Mariángeles Briggiler Marcó, Viviana Suárez y Andrea Quiberoni*

**10. Lechería ovina y producción de quesos como alternativa innovadora y generadora de alto valor agregado / 224**

*Carlos Meinardi, Mario Candiotti, Silvina Rebechi, Facundo Cuffia, Carina Bergamini y Susana Palma.*

**11. Nuevas tendencias en la industrialización de la leche bubalina / 234**

*Silvina Rebechi, Carlos Meinardi, Facundo Cuffia, Mario Candiotti y Guillermo George*

**OTROS / 245**

**Adulteración de leche y productos lácteos / 246**

*Silvina Rebechi, Susana Palma, Verónica Wolf y Ma. Cristina Perotti*

**Sobre los autores / 263**

## **5. Tendencias y desafíos en la producción de quesos frescos de pasta hilada**

Facundo Cuffia, Guillermo George, Jorge Reinheimer,  
Carlos Meinardi y Patricia Burns

### **Aspectos generales**

Los quesos de pasta hilada comprenden un diverso grupo de quesos fabricados a partir de leches bovinas, bubalinas, caprinas u ovinas, y tuvieron su origen en la zona mediterránea norte que abarca Italia, Grecia, Balcanes, Turquía y Europa Oriental. Todos comparten, al final de la elaboración, una etapa común que consiste en sumergir la cuajada ácida en agua caliente y luego someterla a un proceso de texturado (amasado y estiramiento) manual o mecánico, en la cual la cuajada caliente se estira haciendo que las proteínas formen fibras. Estos quesos pueden ser blandos o semiduros (como la Mozzarella tradicional y la Mozzarella para pizza, respectivamente) y se consumen frescos o después de un corto período de maduración. Otros quesos de pasta hilada son duros o semiduros (como Caciocavallo, Ragusano, Kashkaval y Provolone) y presentan una maduración extensa antes de su consumo (Mc Mahon, 2011).

La Mozzarella tradicional italiana, fabricada originalmente con leche de búfala es moldeada a mano en hormas ligeramente ovoidales, esferas pequeñas (*bocconcini* o *cilegie*) o trenzas (*trecce*) y con un peso que oscila entre los 20 y los 800 g dependiendo de la forma. Es un queso de alto con-

tenido de humedad (alrededor del 55%), de color blanco porcelana (por la ausencia de  $\beta$ -caroteno en la leche bubalina), con corteza muy fina (1 mm) y superficie lisa. El sabor es muy característico y delicado, su textura es suave y se aprecian las fibras que conforman las capas que envuelven el líquido cremoso de suave sabor láctico (De Angelis y Gobbetti, 2011). Mientras que la Mozzarella producida en las regiones italianas de Campania, Lazio y Puglia posee denominación de origen controlada (DOC) y está protegida con el nombre de «*Mozzarella di Bufala Campana*», aquellas elaboradas fuera de la región se denominan simplemente Mozzarella de búfala. La variante producida con leche de vaca, llamada tradicionalmente en Italia *Fiordilatte*, desde el año 1989 también puede rotularse como «Mozzarella» (Salvadori del Prato, 1998).

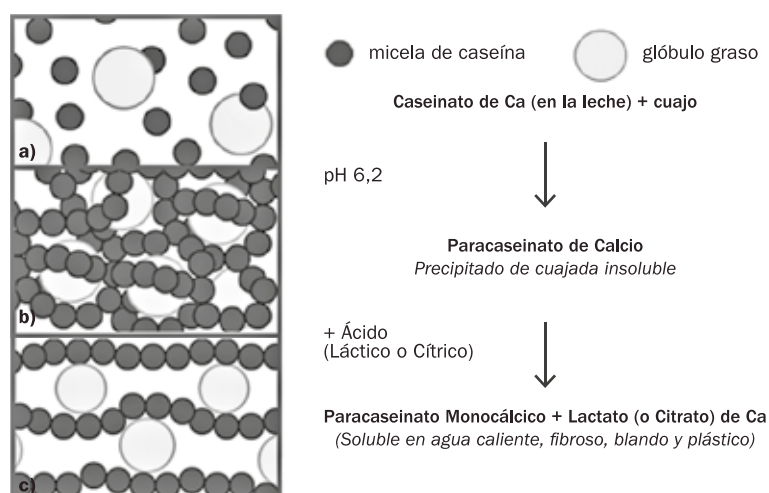
La Mozzarella semidura es la más consumida en el mundo y se ha ganado, de la mano de la pizza, un lugar importante en el mercado mundial de alimentos. En la actualidad representa el 30% de la producción quesera de los EE. UU. (el mayor productor mundial de queso) con un crecimiento del 15% en los últimos cinco años (USDA, 2018). Asimismo, la incorporación creciente de este queso en el consumo chino está cambiando la matriz productiva de los grandes exportadores de leche, los cuales están volcando un gran volumen de materia prima para la elaboración de este producto (originalmente destinada para la producción de leche en polvo).

La Mozzarella para pizza se elabora a partir de leche bovina por lo general, parcialmente descremada y presenta diferencias sustanciales en el proceso de elaboración ya que conlleva un período de maduración que le confiere propiedades características: fundamentalmente una mayor capacidad de derretimiento (*meltability*), la formación en caliente de largos hilos (*stretchability*), la disminución del oscurecimiento por efecto de la cocción (*browning*) y una mayor liberación de aceite durante la cocción (*free-oil*). También se busca en este tipo de queso una buena capacidad de conservación bajo congelamiento y de procesamiento en hebras o pellets para uso directo sobre la masa de la pizza (*shreddability*).

## **Tecnología de elaboración**

La tecnología de elaboración del queso Mozzarella es similar a la de otros quesos de pasta blanda como el Cremoso o el Crescenza (proceso de carácter predominantemente enzimático), que se diferencia principalmente por el proceso de hilado. El hilado es un proceso de texturado de la masa o cuajada que se logra mediante la acción de una fuerza mecánica a elevada temperatura (55–

70 °C) con el fin de obtener una masa lisa y con la capacidad de formar largos hilos para lo cual es necesario trabajar con una cuajada desmineralizada en una proporción determinada. Por acción enzimática se conforma la red tridimensional (cuajada). El calcio es parte fundamental de esta y se fija en forma de fosfato tricálcico. Al aumentar la acidez, la cuajada se desmineraliza pasando las estructuras de enlace de las caseínas a fosfato monocálcico (Walstra, 1999:133). Esta estructura más débil se alinea por la acción del calor y el trabajo mecánico, dejando bandas de proteína separadas entre sí por grasa y agua libre. En la Fig. 1 puede verse de manera simplificada la distribución de la grasa y las micelas de caseína, desde el estado de suspensión en la leche hasta la formación de la cuajada hilada, pasando por la estructura de red con enlaces de fosfato tricálcico de la cuajada a pH mayores.



**Figura 1.** Distribución de las micelas de caseína y la grasa en las diferentes etapas de elaboración: a) leche, b) cuajada y c) cuajada hilada

Si la acidez es demasiado alta, las fibras se cortan fácilmente debido a una elevada pérdida de calcio. Por el contrario, si no se llega a una desmineralización adecuada, la masa es difícil de trabajar y la textura deseada no se logra ya que se requiere un mayor trabajo de hilado dando lugar a una masa más consistente que puede acarrear una pérdida elevada de materia grasa. Asimismo, el aumento de la acidez se logra por acción microbiana (tradicional) o por acidificación directa.



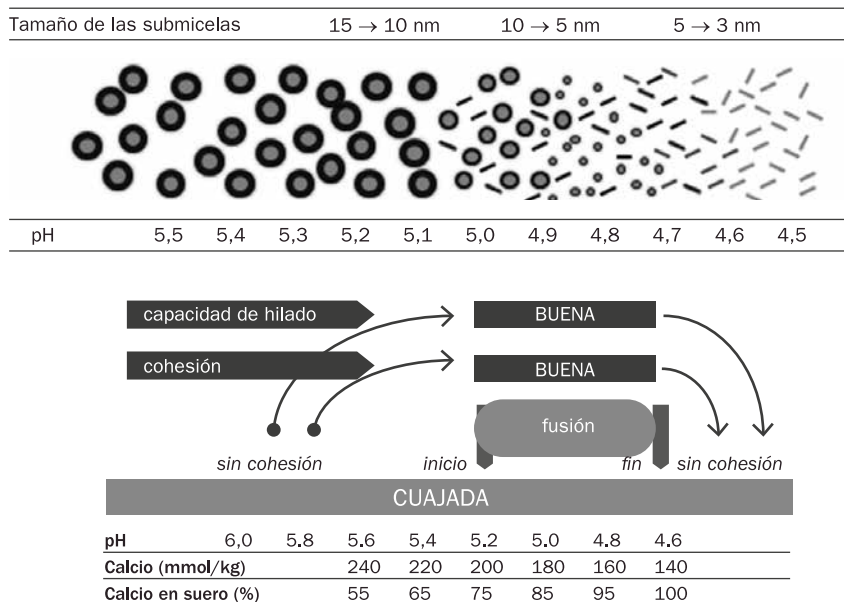
El proceso enzimático comienza con la acción del cuajo sobre la micela caseínica. Al cortarse (hidrolizarse) el enlace 105–106 (Phe–Met) de la k–caseína, esta se divide en para–k–caseína hidrofóbica (péptidos 1–105) y en glicomacropéptido hidrofílico (GMP, 106–169). La emulsión entonces se desestabiliza y se forma el gel por acción de fuerzas de van der Waals entre las moléculas (en un principio) y luego esa unión se va haciendo más firme a medida que se generan puentes (uniones salinas) gracias a la acción de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  (Walstra y col., 1999). Una vez que se obtiene la firmeza de coágulo necesaria, se puede proceder a la deshidratación parcial del mismo mediante el corte de la cuajada (lirado).

La temperatura de elaboración, junto con el tamaño de grano, define la humedad retenida en la cuajada. Cuando se elabora un queso de elevada humedad, como es el caso de la Mozzarella tradicional italiana, se trabaja a temperatura de coagulación constante entre 38 y 40 °C y se corta la cuajada en cubos de 2,5–3 cm de arista. En el caso de la Mozzarella para pizza, se parte de una temperatura de coagulación algo menor (aproximadamente 37 °C) y se la calienta ligeramente luego del corte para obtener una masa más seca. Una vez logrado el tamaño de grano deseado se deja reposar la cuajada bajo suero hasta lograr la desmineralización deseada. El pH de la cuajada en este punto tiene especial relevancia ya que el equilibrio del calcio se ve influido directamente.

El contenido de calcio de las micelas y el agente acidificante utilizado influyen en gran medida en el rango óptimo de pH para el hilado. Si se trabaja con leches ácidas que presentan una elevada desmineralización se debe hilar a un valor de pH mayor al normal mientras que si se trabaja con leche de búfala, que es mucho más rica en caseínas y calcio, se debe llegar a valores de pH cercanos a 4,9 para obtener un hilado óptimo (Fig. 2).

En cuanto al agente acidificante, se observa que para una leche de vaca acidificada por acción del starter, el rango óptimo de pH para el hilado es de aproximadamente 5,1–5,2. Por otro lado, si la misma leche es acidificada de manera directa con ácido cítrico, el rango de pH óptimo de hilado oscila entre 5,6 y 5,8, mientras que si agrega ácido acético o láctico es de 5,4–5,6 (Addeo, 1996). Esto se debe a la variación del poder secuestrante de los cationes  $\text{Ca}^{2+}$  de los distintos ácidos. Estudios realizados con glucono- $\delta$ -lactona reportan valores similares al agregado directo de ácido láctico (Giraffa y Olivari, 1992).

La cuajada ácida se corta en trozos delgados para favorecer el intercambio de calor e hilar de manera uniforme en el menor tiempo posible, trabajando la cuajada a una temperatura de entre 55 y 70 °C. Una vez superados los 50 °C se solubiliza la grasa, lo que suaviza la cuajada permitiendo el esti-



**Figura 2.** Descalcificación de la cuajada de leche de búfala y variación de la aptitud para el hilado en función del pH. Adaptado de Addeo y col., 1995

ramiento de las fibras proteicas con la acción mecánica. Cuando se alcanzan los 70°C, se comienzan a desnaturalizar las proteínas dando lugar a la pérdida de la estructura. La aparición de finos hilos en la masa ya flexible y brillante en superficie muestra que el proceso está finalizado. Si se continúa trabajando la masa, la pérdida de grasa será excesiva y los hilos comenzarán a cortarse fácilmente al ser estirados generando un producto de textura gomosa y defectuosa. Una vez logrado el punto de hilado deseado se debe dar la forma definitiva al queso. Las hormas obtenidas se enfrían rápidamente por inmersión en agua helada lo que permite conservar la forma del queso y también su brillo característico.

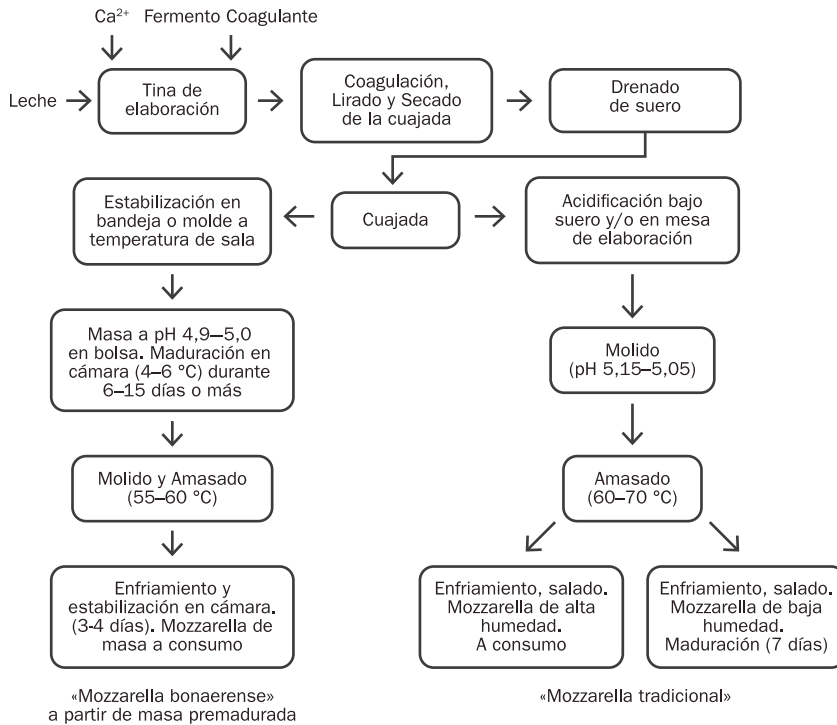
El salado del queso puede realizarse en la etapa de enfriamiento, durante el hilado (mediante el agregado de sal al agua caliente) o agregando la sal en seco a la cuajada feteada previo al ingreso a la hiladora (cheddarizado). En el caso de la Mozzarella tradicional, llegada esta instancia, ya se encuentra lista para su consumo pues no requiere maduración. Por lo general, para que conserve su brillo exterior y no se seque por fuera, se la conserva en líquido de gobierno. Esta solución básicamente debe ser isotónica, para evitar la migración de sales entre el líquido y la Mozzarella, y debe estar tam-

ponada a un pH similar al del queso. En el caso de la Mozzarella para pizza, se acostumbra a envasarla al vacío y otorgarle un período mínimo de maduración de unos 15 días. Este período de tiempo permite una proteólisis del queso que le confiere las características deseadas, especialmente mejorando la manera en que se expande sobre la masa al calentarse (*meltability*) (Banville y col., 2013) y promoviendo el consumo de la galactosa por parte de los lactobacilos presentes en la matriz para evitar la aparición de manchas oscuras por reacciones de Maillard durante la cocción (*browning*). Es común en el caso del *pizza cheese* someterlo a una trituración para obtener trozos pequeños que se congelan individualmente con el fin de facilitar su aplicación y dosificación sobre la masa de pizza.

En nuestro país, particularmente en Buenos Aires, se consume la denominada «Mozzarella bonaerense» que se elabora con una masa premadurada. Sus orígenes se encuentran en los primeros tambos fábricas que, con leche cruda, entera y sin las condiciones higiénico–sanitarias adecuadas, producían una masa que les permitía sacar la producción de dichos campos. Durante el almacenamiento y transporte de la cuajada a los centros de acopio en la ciudad se produce la maduración de la misma, lo que permite su hilado (Vigliengo, 2013). Al momento del hilado, el quesero tritura la masa con distintos tiempos de premaduración con el fin de ajustar las condiciones de hilado. Esta operación se realiza en hiladoras discontinuas calefaccionadas con vapor directo. Debido a que en Buenos Aires se prefiere este tipo de Mozzarella, cuidando las condiciones higiénico–sanitarias se sigue produciendo cuajada premadurada, en bandejas o moldeada, para ser luego hilada. En el diagrama de la Fig. 3 se muestran las distintas tecnologías empleadas en nuestro país.

### **Incorporación de cultivos probióticos**

La búsqueda de productos alimenticios funcionales, es decir, que confieren un aporte a la salud del consumidor más allá de su valor nutritivo, ha llevado a la incorporación de variantes tecnológicas también en este tipo de quesos. La demanda mundial de alimentos adicionados de microorganismos probióticos está aumentando significativamente debido a la creciente conciencia entre los consumidores sobre su relación directa con los beneficios para la salud. Se estima que el mercado de probióticos (USD 49,4 mil millones en 2018) crecerá a una tasa compuesta anual de 7,0% para alcanzar un valor de USD 69,3 mil millones para 2023 (USDA, 2018).



**Figura 3.** Procesos utilizados en la elaboración de distintos tipos de Mozzarella

Los efectos sobre la salud debidos al consumo de microorganismos probióticos están ampliamente demostrados y se han propuesto numerosos mecanismos para explicarlos, entre ellos: metabolización de carbohidratos complejos, defensa contra microorganismos patógenos (producción de componentes antimicrobianos, competencia por sitios de adhesión y nutrientes), modulación de la permeabilidad de la barrera intestinal y estimulación del sistema inmunológico, entre otras (Dongarrà y col., 2013; Barberi y col., 2015).

Los quesos de pasta hilada poseen un proceso de elaboración hostil para la sobrevivencia de los microorganismos mesófilos, especialmente por el fuerte tratamiento térmico, lo que representa un desafío tecnológico para ser considerados como vehículo adecuado para la incorporación de probióticos. Recientes estudios desarrollados en el INLAIN han logrado la selección e incorporación de cepas probióticas comerciales a un queso fresco de pasta hilada tipo *Fiordilatte* (Cuffia y col., 2017, 2019) que, por sus características sobresalientes para el consumo en ensaladas y platos fríos, se presentan como una vía óptima para la incorporación de probióticos en la dieta.

De esta manera, la tecnología desarrollada que contempla específicamente la adición de cepas comerciales de *L. rhamnosus* GG (quesos G), *L. acidophilus* LA5 (quesos L) (Chr. Hansen s/A, Dinamarca), y la combinación de ambas (quesos GL), serán sujetos de estudio del presente capítulo.

Si bien las leches fermentadas y los yogures adicionados de probióticos son los alimentos funcionales más estudiados y comercializados, varios trabajos han demostrado que los quesos son vehículos apropiados para la incorporación de estos microorganismos, presentando incluso algunas ventajas sobre las leches fermentadas, que darían mayor protección a las bacterias probióticas, tales como una matriz más sólida, mayor pH y mayor capacidad buffer (Burns y col., 2008, 2015; Gomes da Cruz y col., 2009). No obstante, existen escasas evidencias de la incorporación de microorganismos probióticos a quesos frescos de pasta hilada. En particular, estos trabajos hacen referencia a la adición de bacterias probióticas microencapsuladas en alginatos o pre-adaptadas al calor (Minervini y col., 2012; Ortakci y col., 2012; Angiolillo y col., 2014).

Los probióticos se definen como «microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor» (Hill y col., 2014). Esta definición implica que estos microorganismos deben mantener su viabilidad y llegar en elevada concentración al intestino, lugar donde ejercen su efecto beneficioso.

El desarrollo realizado en el INLAIN implicó realizar ajustes en la tecnología tradicional de elaboración de quesos tipo *Fiordilatte*, seleccionar cepas probióticas con elevada resistencia térmica y encontrar un medio de cultivo que permitiera realizar recuentos entre lo/s microorganismo/s probiótico/s y el cultivo iniciador (*starter*) utilizado (*S. thermophilus* STI-14—Chr. Hansen).

En particular, los parámetros tecnológicos seleccionados como óptimos fueron: acidificación de la cuajada (pH  $5,20 \pm 0,05$ ), tiempo de hilado (10 min) y temperatura del agua hilado ( $79,0 \pm 1,0$  °C), lo que implica una temperatura del interior de la cuajada de  $60,0 \pm 1,0$  °C. El recuento selectivo de los microorganismos probióticos se realizó en agar MRS-bilis (de Man, Rogosa and Sharpe agar —Biokar, Beauvais, Francia— + bilis bovina 0,15 % (p/v) —Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA—) a 37 °C, 48 h, en aerobiosis (Cuffia y col., 2019). Cabe aclarar que el cultivo iniciador no fue capaz de desarrollar en MRS-bilis y ambos probióticos se diferenciaron según las características morfológicas de las colonias.

El control de la viabilidad de los microorganismos probióticos se realizó una vez incorporados a la leche de la tina, en la cuajada antes del hilado y en los diferentes quesos (G, L y GL) luego de 1, 8, 15 y 29 días de almacenamiento a 4 °C y a 12 °C.

El inóculo inicial de *L. rhamnosus* GG y *L. acidophilus* LA5 fue de 7,0–7,3 log UFC/mL en la leche y su concentración fue  $\geq 8,0$  log UFC/g en las cuajadas. En los tres tipos de quesos ambos probióticos mantuvieron un nivel superior a 6,8 log UFC/g hacia el final de la maduración, lo cual está dentro de la concentración que debe tener un alimento funcional adicionado de microorganismos probióticos (al menos 6,0–7,0 log UFC/g) (Angiolillo y col., 2014). Sin embargo, la temperatura de almacenamiento de los quesos influyó significativamente no solo en el nivel de células viables sino también en las características de los quesos.

### **Temperatura de almacenamiento**

Impacto en la viabilidad de las cepas probióticas y en las características fisicoquímicas y bioquímicas de los quesos

La temperatura de almacenamiento de un alimento en góndola es un factor importante a tener en cuenta para garantizar su calidad durante la vida útil. En nuestro trabajo (Cuffia y col., 2019) se evaluó el efecto de la temperatura de almacenamiento (4 °C y 12 °C) sobre las características microbiológicas, químicas y sensoriales de los quesos G, L y GL. Cuando los quesos fueron almacenados a temperatura de refrigeración (4 °C), la viabilidad de ambas cepas probióticas se mantuvo constante en los tres tipos de quesos hasta el final de la maduración (29 días), con niveles mayores a 7 log UFC/g. Sin embargo, cuando se almacenaron a 12 °C (temperatura habitual de las góndolas abiertas de supermercados), se observó un desarrollo significativo de *L. rhamnosus* GG en los quesos G y GL (no así de *L. acidophilus* LA5). Dado que *Streptococcus thermophilus*, microorganismo utilizado como *starter* en la elaboración de quesos tipo *Fiordilatte* suele ser una bacteria galactosa negativa, su metabolismo genera una concentración residual de galactosa en la cuajada (Kindstedt y col., 2004; Iyer y col. 2010) la que puede ser metabolizada, junto con la lactosa residual, por cultivos adjuntos como *L. rhamnosus*. Si la temperatura es adecuada, permiten el crecimiento de dicho microorganismo, lo cual pudo apreciarse a partir del día 15 de almacenamiento a 12 °C ( $> 1$  orden log) en los quesos G y GL, llegando a valores de 9 log UFC/g hacia el final de la maduración (crecimiento  $> 1,5$  log UFC/g). Aun cuando el desarrollo de una cepa probiótica podría ser considerado como un aspecto positivo para la funcionalidad del alimento, se debe prestar especial atención al impacto de su actividad metabólica sobre las características sensoriales y la calidad del producto (Cuffia y col., 2019).

En términos generales, la composición global de los quesos (valores de grasa, proteína y humedad) no se ve afectada por la incorporación de microorganismos probióticos (Minervini y col., 2012; Ortakci y col., 2012; Cuffia y col., 2017, 2019). Como se mencionó anteriormente, los azúcares residuales de la cuajada (galactosa y lactosa) pueden ser metabolizadas por cultivos adjuntos como *L. rhamnosus* y *L. acidophilus*, lo que da lugar a la producción de ácidos orgánicos (Watson y col., 2012). Como resultado, las altas concentraciones de estos cultivos incorporados en los quesos producen una gran cantidad de ácido D-láctico durante la maduración, lo que genera valores de pH más bajos. Asimismo, fenómenos de pos acidificación debidos al almacenamiento a temperaturas inadecuadas y a la presencia de cultivos complementarios han sido reportados (Vinderola y col., 2009; Guidone y col., 2015). Esto estaría de acuerdo con los resultados observados ya que no se detectaron diferencias significativas en el pH cuando los quesos se almacenaron a 4 °C y los valores se mantuvieron estables ( $\sim 5,25$ ) durante todo el proceso de maduración, lo que se correlaciona directamente con la estabilidad observada en la viabilidad de *L. acidophilus* LA5 y *L. rhamnosus* GG. Esto indicaría que, a la temperatura mencionada, la incorporación de cultivos probióticos (individualmente o combinados) no presenta capacidad para acidificar el medio (Milesi y col., 2008; Cuffia y col., 2017). Sin embargo, cuando la maduración se realizó a 12 °C, se comprobó un comportamiento diferente. Durante el primer día de almacenamiento, no se observaron diferencias significativas de pH; sin embargo, después del octavo, se evidenció una disminución significativa entre las muestras (GL12 > G12 > L12). Finalmente, se detectó la presencia de un efecto sinérgico en la producción de ácidos a partir de los 15 días de almacenamiento a 12 °C, ya que los quesos adicionados con ambos probióticos presentaron valores de pH significativamente más bajos que aquellos que sólo contenían una cepa.

El contenido de nitrógeno en la fracción soluble a pH 4,6 (NS-4,6) representa la proteólisis primaria y se produce a partir de la descomposición de las caseínas intactas (especialmente las caseínas  $\alpha_1$  y  $\beta$ ) principalmente por proteasas no microbianas. En los quesos blandos, en particular, el cuajo residual es el principal agente no microbiano que participa en la proteólisis durante la maduración (Delacroix-Buchet y Fournier, 1992; Vélez y col., 2015). Por otro lado, el contenido de nitrógeno en las fracciones de nitrógeno soluble en ácido tricloroacético (NS-TCA) y fosfotúngstico (NS-PTA) representa la proteólisis secundaria, que se produce principalmente por la actividad de enzimas proteolíticas microbianas de los cultivos iniciador y adjunto y también de NSLAB (*non-starter lactic acid bacteria*) (Fox y col., 1996). Estas enzimas hidrolizan los péptidos grandes y medianos, lo que lleva a la producción de péptidos más pequeños y aminoácidos libres (FAA, *free aminoacids*).

Se ha demostrado la capacidad de *L. rhamnosus* y *L. acidophilus* para generar péptidos, aminoácidos y compuestos de nitrógeno más pequeños durante la fermentación láctica impulsada por su sistema proteolítico (Azcarate-Peril y col., 2005; González-Olivares y col., 2014; Gobetti y col., 2015), efecto que se intensifica cuando la temperatura de almacenamiento se acerca a la temperatura óptima del sistema mencionado, lo que podría generar un aumento en la proteólisis secundaria. En este sentido, las enzimas de los cultivos adjuntos presentes en la matriz del queso podrían ser responsables de aumentar la fracción de NS-TCA y NS-PTA, lo que conlleva a la formación de compuestos aromáticos (Minervini y col., 2012). Los niveles de NS-4,6 no mostraron diferencias significativas entre los quesos G, L y GL y los valores de las fracciones NS-TCA y NS-PTA fueron significativamente más altos en los quesos almacenados a 12 °C respecto de los almacenados a 4 °C. Ninguno de los cultivos probióticos, agregados individualmente o combinados, tuvo un impacto en la proteólisis primaria, lo que se evidenció por los valores de NS-4,6, pero sí se detectó un aumento en la proteólisis secundaria, principalmente cuando se agregaron combinados.

## Aspectos sensoriales

La temperatura de almacenamiento es un factor importante para la conservación de los productos alimenticios con elevado contenido de humedad y puede impactar en las características sensoriales de un producto.

A fin de determinar el comportamiento de los quesos estudiados, se llevó a cabo un Análisis Cuantitativo Descriptivo a partir de panelistas entrenados, quienes no percibieron diferencias significativas en la apariencia de los quesos y los describieron como blancos, lisos y con una superficie brillante, requisitos básicos de los quesos de pasta hilada (Jana y Mandal, 2011). Asimismo, no detectaron cantidades significativas de exudado dentro de la masa al dividir las muestras.

Dado que los niveles de grasa y humedad afectan principalmente el color y la cantidad de exudado (Wadhvani y McMahon, 2012) y, como se describió anteriormente, la composición general no mostró diferencias entre los quesos, era de esperarse que el color, el brillo y las cantidades de exudado fueran similares en las muestras almacenadas a ambas temperaturas.

El almacenamiento de quesos a temperaturas elevadas de refrigeración puede inducir varios cambios en el perfil de los compuestos volátiles que pueden provocar una disminución de sus cualidades (Bishop y Smukowski, 2006; Jana y Mandal, 2011). De esta manera, los quesos almacenados a 12 °C



presentaron una intensidad de olor significativamente mayor que los almacenados a 4 °C, independientemente del cultivo complementario utilizado.

Las puntuaciones para el sabor amargo y ácido fueron significativamente más altas en G12, L12, GL12 que en G4, L4 y GL4. El mayor sabor ácido coincidió con los valores de pH más bajos, lo que indica que existe una correlación directa entre el análisis sensorial y las características fisicoquímicas. Además, el retrogusto fue significativamente más fuerte en las muestras maduradas a 12 °C. En este sentido, es importante destacar que el sabor amargo se debe a la actividad proteolítica de algunas cepas (Chandan, 2014) y ha sido reportada por parte de *L. rhamnosus* GG en quesos frescos almacenados a 14 °C (González–Olivares y col., 2014) lo que podría deberse al hecho de que la actividad proteolítica se promueve a temperaturas más cercanas a la óptima para el sistema proteolítico de las BAL (bacterias ácido–lácticas).

Los atributos de textura mecánica tales como firmeza, elasticidad y masticabilidad no mostraron diferencias entre las muestras. Por otro lado, la mayor temperatura de almacenamiento hizo que los quesos se adhirieran más a los dientes y al paladar, encontrándose mayor granulosidad en G12, L12 y GL12, lo que corresponde a un queso más ácido.

En vistas de que las características texturales, de apariencia y de sabor afectan la calidad general, los panelistas consideraron que la temperatura de almacenamiento jugó un papel fundamental en la diferenciación entre los quesos, lo que se vio reflejado en las puntuaciones de calidad general (significativamente más altas en los quesos almacenados a 4 °C que los almacenados a 12 °C).

## Aspectos funcionales

*L. rhamnosus* GG y *L. acidophilus* LA5 son dos cepas probióticas comerciales con efectos benéficos ampliamente demostrados (De Vrese y col., 2011; Gorbach y col., 2016). Sin embargo, cuando se incorporan a un alimento, sus características funcionales pueden verse afectadas debido a la presencia de diversos ingredientes en la matriz alimentaria tales como compuestos bioactivos. Es así que, para un alimento adicionado de cepas probióticas es necesario demostrar la funcionalidad del producto final mediante ensayos *in vivo*.

En este sentido, en el INLAIN se evaluó la funcionalidad de los quesos frescos de pasta hilada L, G y GL (almacenados a 4 °C durante 15 días) utilizando un modelo de ratones BALB/c.

Los animales fueron alimentados durante 10 días consecutivos, mediante intubación intragástrica, con una suspensión de los quesos en agua (recibiendo una dosis de entre 7,6 y 7,9 log UFC/ratón). Se evaluó la seguridad de los quesos mediante translocación de microbiota entérica a hígado y la capacidad de modular el sistema inmunológico a través de la determinación de la concentración de iga-s (inmunoglobulina A-secretoria, principal defensa de las mucosas) en fluido intestinal y de citoquinas anti y pro-inflamatorias en intestino delgado y grueso por técnica de Elisa. Un grupo de animales recibió queso control (c) (elaborado sin la adición de cepas probióticas).

En todos los casos el ensayo de translocación resultó negativo, indicando que todos los quesos fueron seguros. Por otro lado, los animales alimentados con los quesos L y GL presentaron niveles significativamente más elevados de iga-s respecto a los quesos G y control. El nivel de citoquinas proinflamatorias (IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) en homogenado de intestino delgado y grueso se redujo significativamente en los animales alimentados con los quesos probióticos respecto al grupo control. En particular, los grupos G y GL presentaron niveles significativamente menores de IL-6 y TNF- $\alpha$  en homogenado de intestino delgado.

Estos resultados demuestran que los quesos L, G y GL resultaron seguros y fueron capaces de modular la respuesta inmune en animales, incrementando las defensas a nivel de mucosas y disminuyendo el perfil de citoquinas proinflamatorias. Los efectos dependieron de la cepa probiótica utilizada y en ninguno de los casos se observó un efecto sinérgico debido al agregado de ambos cultivos probióticos combinados, lo que confirma que el efecto benéfico de los microorganismos probióticos es cepa-dependiente y debe evaluarse cada caso particular.

Hasta el momento no se reportan datos en la bibliografía en los cuales se demuestre la funcionalidad *in vivo* de quesos tipo *Fiordilatte* adicionados de microorganismos probióticos. El aporte realizado en el INLAIN puede ser considerado muy valioso ya que se logró desarrollar exitosamente quesos frescos de pasta hilada adicionados de cepas probióticas y demostrándose su funcionalidad *in vivo*, lo cual podría ampliar la oferta de alimentos funcionales existentes en el mercado.

## Referencias bibliográficas

- Addeo, F.; Emaldi, G.C. y Masi, P. (1995).** Tradizione e innovazione nella produzione della «Mozzarella di bufala Campana». *Bubalus Bubalis*, 3, 46–62.
- Addeo, F. (1996).** Actas del Congreso Internacional de Tecnología en Producción de Quesos organizado por Chr.Hansen–FEPALE. Buenos Aires, 276.
- Angiolillo, L.; Conte, A.; Faccia, M.; Zambrini, A. y Del Nobile, M. (2014).** A new method to produce symbiotic Fiordilatte cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 180–187.
- Azcarate-Peril, M.A.; Mcauliffe, O.; Altermann, E.; Lick, S.; Russell, W.M. y Klaenhammer, T.R. (2005).** Microarray analysis of a two–component regulatory system involved in acid resistance and proteolytic activity in *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 5794–5804.
- Banville, V.; Morin, P.; Pouliot, Y. y Britten, M. (2013).** Physical properties of pizza Mozzarella cheese manufactured under different cheese–making condition. *Journal of Dairy Science*, 96, 4804–4815.
- Barberi, C.; Campana, S.; De Pasquale, C.; Rabhani Khorasgani, M.; Ferlazzo, G. y Bonaccorsi, I. (2015).** T cell polarizing properties of probiotic bacteria. *Immunology Letters*, 168(2), 337–342.
- Bishop, J.R. y Smukowski, M. (2006).** Storage temperatures necessary to maintain cheese safety. *Food Protection Trends*, 26(10), 714–724.
- Burns, P.; Patrignani, F.; Serrazanetti, D.; Vinderola, G.C.; Reinheimer, J.A.; Lanciotti, R. y Guerzoni, M.E. (2008).** Probiotic crescenza cheese containing *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* manufactured with high–pressure homogenized milk. *Journal of Dairy Science*, 91, 500–512.
- Burns, P.; Patrignani, F.; Tabanelli, G.; Vinderola, G.C.; Siroli, L.; Reinheimer, J.A.; Lanciotti, R. y col. (2015).** Potential of high–pressure homogenisation on probiotic Caciotta cheese quality and functionality. *Journal of Functional Foods*, 13, 126–136.
- Chandan R. (2014).** Dairy fermented products. En Clark S.; Jung S. y Lamsal, B. (Eds.). *Food Processing: Principles and Applications, Second Edition*. Minnesota, USA: John Wiley & Sons, Ltd., 405–435.
- Cuffia, F.; George, G.; Renzulli, P.; Reinheimer, J.A.; Meinardi, C. y Burns, P. (2017).** Technological challenges in the production of a probiotic pasta filata soft cheese. *LWT – Food Science and Technology*, 81, 111–117.
- Cuffia, F.; Pavón, Y.; George, G.; Reinheimer, J.A. y Burns, P. (2019).** Effect of storage temperature on the chemical, microbiological and sensory characteristics of pasta filata soft cheese containing probiotic lactobacilli. *Food Science and Technology International*, 25, 588–596.
- De Angelis, M. y Gobbetti, M. (2011).** Pasta–Filata Cheeses: Traditional Pasta–Filata Cheese. En *Encyclopedia of Dairy Sciences Second Edition*. Londres: Elsevier, 745–752.
- Delacroix–Buchet, A. y Fournier, S. (1992).** Protéolyse et texture des fromages à pâte cuite pressée. II. Influence de la chymosine et des conditions de fabrication. *Lait*, 72, 53–72.
- De Vrese, M.; Kristen, H.; Rautenberg, P.; Laue, C. y Schrezenmeir, J. (2011).** Probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a fermented milk product with added fruit preparation reduce antibiotic associated diarrhea and *Helicobacter pylori* activity. *Journal of Dairy Research*, 78(4), 396–403.
- Dongarrà, M.L.; Rizzello, V.; Muccio, L.; Fries, W.; Cascio, A.; Bonaccorsi, I. y Ferlazzo, G. (2013).** Mucosal immunology and probiotics. *Current Allergy and Asthma Reports*, 13(1), 19–26.
- Fox, P.; Wallace, J.; Morgan, S.; Lynch, C.; Niland, E. y Tobin, J. (1996).** Acceleration of cheese ripening. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 271–297.
- Giraffa, G. y Olivari, G. (1992).** Impiego di glucono delta lattone nella fabbricazione di formaggi. Nota II: mozzarella. *L'industria del latte*, 28, 59–72.
- Gobbetti, M.; De Angelis, M.; Di Cagno, R.; Mancini, L. y Fox, P. (2015).** Pros and cons for using non–starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends in Food Science & Technology*, 45, 167–178.
- Gomes da Cruz, A.; Buriti, A.F.C.; Batista de Souza, C.H.; Fonseca Faria, J.A. y Saad, S.M.I. (2009).** Probiotic cheese: Health benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 344–354.

- González-Olivares, L.; López-Cuellar, Z.; Añorve-Morga, J.; Franco-Fernández, M.; Castañeda-Ovando, A.; Contreras-López, E. y Jaimez-Ordaz, J. (2014).** Viability and proteolytic capacity of *Lactobacillus bulgaricus* 2772 and *Lactobacillus rhamnosus* GG during cheese ripening. *Journal of Biosciences and Medicines*, 2, 7–12.
- Gorbach, S.; Doron, S. y Magro, F. (2016).** *Lactobacillus rhamnosus* GG. En *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis*. Londres: Elsevier, 79–89.
- Guidone, A.; Braghieri, A.; Cioffi, S.; Claps, S.; Genovese, F.; Morone, G. y col. (2015).** Effect of adjuncts on microbiological and chemical properties of Scamorza cheese. *Journal of Dairy Science*, 98, 1467–1478.
- Hill, C.; Guarner, F.; Reid, G.; Gibson, G.R.; Merenstein, D.J.; Pot, B.; Sanders, M.E. y col. (2014).** The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506–514.
- Iyer, R.; Tomar, S.; Uma Maheswari, T. y Singh, R. (2010).** *Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 20, 133–141.
- Jana, A.H. y Mandal, P.K. (2011).** Manufacturing and Quality of Mozzarella Cheese: A Review. *International Journal of Dairy Science*, 6(4), 199–226.
- Kindstedt, P.; Carić, M. y Milanović, S. (2004).** Pasta filata cheeses. En Fox, P.; McSweeney, P.; Cogan, T. y Guinee, T. (Eds.). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Londres: Elsevier, 251–257.
- McMahon, D.J. (2011).** Pasta-Filata Cheeses: Low-Moisture Part-Skim Mozzarella (Pizza Cheese). En *Encyclopedia of Dairy Sciences Second Edition*. Londres: Elsevier, 737–744.
- Minervini, F.; Siragusa, S.; Faccia, M.; Dal Bello, F.; Gobetti, M. y De Angelis, M. (2012).** Manufacture of Fiordilatte cheese by incorporation of probiotic lactobacilli. *Journal of Dairy Science*, 95, 508–520.
- Milesi, M.; Mc Sweeney, P. y Hynes E. (2008).** Viability and contribution to proteolysis of an adjunct culture of *Lactobacillus plantarum* in two model cheese systems: Cheddar cheese-type and soft-cheese type. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 884–892.
- Ortakci, F.; Broadbent, J.R.; McManus, W.R. y McMahon, D.J. (2012).** Survival of microencapsulated probiotic *Lactobacillus paracasei* LBC–1e during manufacture of Mozzarella cheese and simulated gastric digestion. *Journal of Dairy Science*, 95, 6274–6281.
- Salvadori del Prato, O. (1998).** Mozzarella. *Trattato di tecnologia casearia*. Boloña: Edagricole, 593–605.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2018).** Estadísticas recuperadas de [https://quickstats.nass.usda.gov/results/BEA543C-0754-399D-AA91-2ABE7D608E87?pivot=short\\_desc](https://quickstats.nass.usda.gov/results/BEA543C-0754-399D-AA91-2ABE7D608E87?pivot=short_desc)
- Vélez, M.; Bergamini, V.; Ramonda, M.; Candiotti, M.; Hynes, E. y Perotti, M. (2015).** Influence of cheese making technologies on plasmin and coagulant associated proteolysis. *LWT–Food Science and Technology*, 64, 282–288.
- Vigliengo, E. (2013).** Síntesis del material de las charlas técnicas. *ExpoSuipacha 2013*, 116.
- Vinderola, G.; Prosello, W.; Mollinari, F.; Ghiberto, D. y Reinheimer, J.A. (2009).** Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinean probiotic cheese and its impact on the characteristics of the product. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 171–174.
- Wadhvani, R. y McMahon, D. (2012).** Colour of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *Journal of Dairy Science*, 95, 2336–2346.
- Walstra, P.; Geurts, T.J.; Noomen, A.; Jellema, A. y van Boekel, M.A.J.S. (1999).** *Dairy Technology. Principles of Milk Properties and Processes*. New York: Marcel Dekker.
- Watson, D.; O’Connell Motherway, M.; Schoterman, M.; Joost van Neerven, R.; Nauta A. y van Sinderen, D. (2012).** Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 114, 1132–1146.

#### Página web

(2018) <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-and-global-market-69.html>