

04TCA - Impacto del uso de leche enriquecida con leche en polvo descremada y de cultivos adjuntos en los perfiles de maduración de queso Cremoso

Impact of the use of milk enriched with skim milk powder and adjunct cultures on the ripening profiles of Cremoso cheese

Paula Giménez¹, Guillermo Peralta¹, Mara Batistela¹, Guillermo George^{1,2}, Facundo Cuffia¹, Elisa Ale¹, Laura Spotti³, Juan Pablo Quintero³, M. Cristina Perotti^{1,2}, Erica Hynes^{1,2}, Carina Bergamini^{1,2}

1. Instituto de Lactología Industrial (UNL/CONICET). 1ro de Mayo 3250, Santa Fe, Argentina.
2. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, UNL, Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina.
3. Laboratorio de Estudios Físicoquímicos de Alimentos. ITA – FIQ, UNL. Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina. paula.gimenez92@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar el impacto del uso de leche enriquecida con Leche en Polvo Descremada (LPD) y la utilización de dos fermentos adjuntos: *Lactocaseibacillus paracasei* L90 y *Lactobacillus rhamnosus* L73, en la elaboración y maduración de queso Cremoso. La incorporación de LPD a la leche de quesería permitió incrementar significativamente el rendimiento quesero y como consecuencia permite mejorar la capacidad operativa de la planta quesera. Esta estrategia afectó solamente algunas características de los quesos elaborados: incrementó el nivel de carbohidratos y algunos ácidos, generó un leve incremento de la masticabilidad y dureza y una pequeña disminución de la fusión, lo que probablemente sea consecuencia de una leve disminución de la proteólisis observada en estos quesos, y finalmente, no sólo no produjo defectos sensoriales, sino que incrementó la aceptabilidad de los productos. En relación a los fermentos adjuntos, ambas cepas se mantuvieron en elevados niveles en los quesos durante la maduración, lo que permite controlar las NSLAB (bacterias lácticas no provenientes del fermento) adventicias. Además, no generaron defectos de postacidificación o formación de ojos no deseados. La cepa L73 mostró un impacto beneficioso en la aceptabilidad de los quesos, mientras que L90 incrementó la peptidólisis y afectó la textura en forma diferencial en los quesos con o sin LPD.

Palabras clave: queso Cremoso, fermentos adjuntos, maduración, leche de quesería enriquecida, leche en polvo.

Abstract

In the present work, the impact of the use of milk enriched with skim milk powder by the addition of Skimmed Milk Powder (SMP) and the utilization of two adjunct cultures: *Lactocaseibacillus paracasei* L90 and *Lactobacillus rhamnosus* L73, on Cremoso cheese-making and ripening was evaluated. The incorporation of SMP into the cheese milk significantly increased the cheese yield and as a consequence allows improving the operating capacity of the cheese plant. This strategy affected only some characteristics of the cheeses: it increased the level of carbohydrates and some acids, produced a slight increase in cheese chewiness and hardness and a small decrease in the melting properties that is probably due to the slight decrease of proteolysis observed in these cheeses. Finally, the addition of SMP also increased the acceptability of the products. In relation to the adjunct cultures, high levels of both strains were maintained in the cheeses during ripening, which allows controlling adventitious NSLAB (non-starter lactic acid bacteria). Furthermore, no post-acidification defects or unwanted eye formation were produced. The L73 strain showed a beneficial impact on the acceptability of the cheeses, while L90 increased peptidolysis and affected the texture differentially in the cheeses with or without LPD.

Keywords: Cremoso cheese, adjunct cultures, ripening, enriched cheesemilk, milk powder.

1. Introducción

El agregado de polvos lácteos a la leche de quesería es una estrategia utilizada para estandarizar el nivel proteico y/o aportar propiedades tecnofuncionales como la mejora de la textura y la retención de agua. Sin embargo, esta práctica incrementa la cantidad de sustratos fermentables como lactosa y citrato, que podrían ser utilizados, tanto por los fermentos como por la flora adventicia. A su vez, el incremento del nivel de proteínas ocasiona cambios en las propiedades de coagulación (Guinee, *et al.*, 1997) que hay que tenerlas en cuenta para ajustar el protocolo de elaboración. Los efectos mencionados podrían ocasionar modificaciones en los perfiles de maduración, que podrían derivar en la aparición de defectos de textura o sabor. Sin embargo, la información reportada acerca del efecto del enriquecimiento de la leche de quesería con polvos lácteos en la maduración de quesos es escasa (Shakeel-Ur-Rehman *et al.*, 2003; Oh *et al.*, 2014).

A su vez, durante las últimas dos décadas se ha popularizado el uso de fermentos adjuntos o de afinado en quesería con el objetivo de mejorar la calidad de los quesos. Estos fermentos están generalmente constituidos por lactobacilos mesófilos de origen no fermento, aislados de quesos de buena calidad y cuyas propiedades bioquímicas y tecnológicas han sido adecuadamente caracterizadas (Johnston *et al.*, 2010). De los fermentos adjuntos se espera que prosperen en el queso evitando la proliferación de NSLAB adventicias y potencialmente perjudiciales, que no produzcan ningún defecto y que, en lo posible, también aporten positivamente al flavour y la calidad del producto final (Broadbent *et al.*, 2011). La influencia de las NSLAB y fermentos adjuntos durante la maduración de quesos depende de sus actividades enzimáticas específicas. De esta manera, podrían tener un impacto en la peptidólisis, aumentando los aminoácidos libres y contribuyendo a controlar el defecto de sabor amargo, inducido por péptidos de carácter hidrofóbico; además, podrían participar en el catabolismo de aminoácidos aportando gran cantidad de compuestos de flavour (Yvon, 2006). Nuestros antecedentes, así como los reportados en la bibliografía en relación al uso de fermentos adjuntos en quesos, se han llevado a cabo en variedades tradicionales, mientras que no hay información de la performance de estos fermentos en quesos elaborados con leches enriquecidas en proteínas por el agregado de ingredientes lácteos. En el INLAIN se han obtenido y caracterizado varias cepas de fermentos adjuntos. En particular, la cepa *Lacticaseibacillus paracasei* 90 (L90), fue ensayada con éxito en modelos de queso, y en

quesos blandos, semiduros y duros en los que fue añadida como cultivo fresco o liofilizada luego de su crecimiento en un medio comercial (Milesi *et al.*, 2008, 2010, Peralta *et al.*, 2016, Cuffia, 2016, Peralta *et al.*, 2017), mientras que la cepa *Lactobacillus rhamnosus* 73 (L73) fue evaluada como cultivo fresco en queso blando y semiduro (Milesi *et al.*, 2008, 2009). Además, estas cepas se han caracterizado en cuanto a su perfil de actividades aminotransferasa y glutamatodeshidrogenasa, ya que son enzimas clave para el desarrollo de sabor en el queso (Peralta *et al.*, 2016). El objetivo del presente trabajo fue determinar el impacto del uso de leche enriquecida con Leche en Polvo Descremada (LPD) y la utilización de fermentos adjuntos en la elaboración y maduración de queso Cremoso.

2. Materiales y métodos

Diseño experimental

Se evaluó la influencia de dos factores (F) en la maduración de queso Cremoso: **F1**: adición de leche en polvo descremada de bajo tratamiento térmico (LPD) (La Serenísima, Buenos Aires) a la leche de elaboración; **F2**: adición de un fermento adjunto autóctono del cepario del INLAIN. El F1 se estudió a dos niveles: 1-con adición de LPD (P) y 2-sin adición de LPD (C). La concentración de proteína y materia grasa de las leches utilizadas fueron las siguientes respectivamente: leche control 3,30g% y 3,19 g% y leche enriquecida 4,71g% y 4,75g%. El F2 se estudió a tres niveles: 1- sin fermento, 2- con *Lacticaseibacillus paracasei* 90 (L90) y 3- con *Lactobacillus rhamnosus* 73 (L73). Las dos cepas autóctonas fueron crecidas a pH controlado (pH 6,5) en un medio optimizado a base de permeado de suero en el cual alcanzaron niveles de más de 9 log UFC/mL; el pellet celular fue liofilizado y almacenado a 4°C hasta su uso en las elaboraciones (Batistela *et al.*, 2021). De esta manera, seis tipos de queso Cremoso fueron elaborados que se rotularon como: **C**, **C90**, **C73**, **P**, **P90** y **P73**.

Elaboración de quesos Cremoso

Los quesos fueron elaborados por triplicado en la planta piloto del INLAIN utilizando leche cruda provista por una empresa láctea cercana (Milkaut, Santa Fe). Para cada queso se utilizaron 30 L de leche, que fue pasteurizada (65°C-30min) y estandarizada (materia grasa/proteína: 1,1) antes de la elaboración. Se adicionaron el fermento primario y los adjuntos (a un nivel de 10⁶ UFC/mL), según corresponda, previamente resuspendidos en leche durante 10 min. El

coagulante (Chymax, Chr. Hansen) fue adicionado 30 min después del agregado del fermento y cuando la cuajada alcanzó la firmeza adecuada, fue cortada en granos de 5 mm³ aproximadamente. El protocolo de elaboración de los quesos con leche concentrada se ajustó en base a los resultados obtenidos en un trabajo previo acerca de la influencia del agregado de leche en polvo en los parámetros de coagulación (Giménez, *et al.*, 2021). En los quesos con adición de LPD (quesos P, P90 y P73), se realizó un lavado de la cuajada (20%) con el objetivo de disminuir el nivel de lactosa que se incrementa por la adición del polvo. Una vez alcanzada la humedad de grano deseada, la cuajada se moldeó y los quesos se acidificaron hasta pH 5,3 en cámara a 40°C, luego de lo cual se salaron por inmersión en salmuera (20% p/v, pH 5,4, 4°C) a razón de 1 h/kg. Los quesos se orearon a 4-6°C durante 5 días, se envasaron al vacío y se maduraron durante 30 días a 4°C.

Análisis de los quesos

Rendimiento, composición global y pH

Se determinó el rendimiento de cada elaboración mediante la determinación del peso de la cuajada luego del salado. El rendimiento fue calculado como la relación porcentual del peso total de la cuajada y el volumen de leche utilizada (Guinee, *et al.*, 2006). Se analizó la composición global (humedad, materia grasa y proteínas) y el pH mediante métodos normalizados: pH (Bradley *et al.*, 1993), sólidos totales (ISO 5534|IDF 004:2004), grasa (ISO 3433|IDF 222:2008), y proteínas (ISO 8968-1|IDF 20-1:2011). La composición global fue determinada a los 12 días de elaboración, mientras que el pH fue evaluado a 0, 12 y 30 días.

Carbohidratos y ácidos orgánicos

Los niveles de lactosa, galactosa y ácidos orgánicos (cítrico, acético, láctico, orótico, hipúrico) fueron analizados por HPLC según Peralta *et al.* (2017) a los 0, 12 y 30 días de maduración.

Perfiles peptídicos

El seguimiento de la proteólisis se realizó mediante el análisis de los perfiles peptídicos por HPLC de fase reversa (Hynes *et al.*, 2003) a los 0, 12 y 30 días de maduración.

Recuentos microbiológicos

Se tomaron muestras de queso a los 12 y 30 días de maduración para los análisis microbiológicos mediante recuento en placa. Se determinaron los niveles del starter (*Streptococcus thermophilus*), de los cultivos adjuntos (L90 y L73) en APC leche y MRS agar pH 5,4, respectivamente (37°C, 48h, en condiciones microaerofilicas). Este último medio también se utilizó para evaluar NSLAB en los quesos sin adición de cultivos adjuntos (C y P). El nivel de bacterias coliformes fue analizado en VRBL (agar violeta rojo bilis) (32°C, 24h).

Perfil de textura y capacidad de fusión

El perfil de textura se determinó a los 30 días de maduración en una máquina universal de ensayos INSTRON Modelo 3344 USA, utilizando como dispositivo para realizar la compresión una base y una placa de compresión de 9 y 6 cm de diámetro respectivamente (Casa-Aléncaster, 2005). El ensayo se llevó a cabo realizando dos ciclos de compresión a un nivel de deformación del 30%. Las muestras se tomaron con un sacabocados, resultando cilindros de 28 mm de diámetro y 16 mm de altura. Se utilizó una fuerza de contacto de 0,05 N, a una velocidad de 1 mm/s y un tiempo de espera entre el primer y el segundo ciclo de 5 s. A partir de la curva fuerza-tiempo se obtuvieron los siguientes parámetros de textura: dureza, índice de recuperación elástica instantánea (IREI), índice de recuperación elástica retardada (IRER), masticabilidad, cohesividad, resiliencia y adhesividad. Por otro lado, también se determinó la capacidad de fusión como el incremento del área de un cilindro de queso (28 mm diámetro y 16 mm de altura) por calentamiento en estufa (130°C durante 15 minutos), utilizando una modificación del test de Schreiber (Muthukumarappan *et al.*, 1999). Las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4°C hasta su análisis. Luego del calentamiento, las muestras se enfriaron a 4°C y se tomaron imágenes de las mismas mediante un escáner. Las áreas del queso antes y luego del calentamiento fueron calculadas mediante el software de dominio público Image J. Los ensayos de textura y fusión se realizaron al menos por duplicado.

Análisis sensorial

Las pruebas se llevaron a cabo en un laboratorio sensorial, en cabinas individuales, diseñadas de acuerdo a la norma ISO 8589 (2007). Se controló la luz del día artificial, la temperatura constante (22°C) y la circulación del aire. Un total de 103 consumidores fueron reclutados de la base de datos del Departamento de Análisis Sensorial de la Universidad Nacional del Litoral (Santa Fe, Argentina) en función de su consumo de quesos (al menos una vez a la semana), disponibilidad e

interés por participar. Los participantes tenían entre 18 y 60 años y el porcentaje de mujeres fue del 62%. Los consumidores no recibieron ninguna información adicional sobre las muestras antes de la degustación y dieron su consentimiento informado por escrito. Se pidió a los consumidores que probaran las muestras y que codifiquen su gusto general (aceptabilidad) utilizando una puntuación hedónica horizontal; en donde: 9 = me gusta muchísimo; 8 = me gusta mucho; 7 = me gusta; 6 = me gusta poco; 5 = me resulta indiferente; 4 = me disgusta poco; 3 = me disgusta; 2 = me disgusta mucho; y 1 = me disgusta muchísimo (Ares *et al.*, 2017). Los anclajes verbales de la escala se seleccionaron para que la distancia psicológica entre los puntos sucesivos de la escala sea igual (Wichchukit & O'Mahony, 2014).

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante ANOVA de dos vías ($p=0,05$) para determinar la influencia de los dos factores estudiados (F1 y F2, ver diseño experimental) en los parámetros evaluados. Las diferencias entre medias se determinaron mediante el test de Tukey. Para el análisis estadístico se utilizó el software Minitab 18 Statistical Software (Minitab Inc., State College, PA, USA).

3. Resultados y Discusión

Rendimiento, composición global y pH

La incorporación de LPD incrementó el rendimiento quesero en las elaboraciones ($p<0,05$). El rendimiento de los quesos elaborados con la leche control (C, C90 y C73) fue de $13,1\pm 0,7\%$, mientras que el obtenido para los quesos elaborados con leche enriquecida (P, P90 y P73) fue de $19,2\pm 0,5\%$. De esta manera, la estrategia utilizada permitió incrementar el rendimiento quesero en casi un 50%. El mayor rendimiento se correlacionó con el incremento de sólidos lácteos en la leche enriquecida, la cual contenía niveles de materia grasa y proteínas aprox. 47% mayor que en la leche control.

Los valores de pH (Figura 1) y de composición global: proteínas (%P), materia grasa (%G) y humedad (%H) (Tabla 1), estuvieron dentro de los valores esperados para este tipo de quesos y no se observaron diferencias significativas en ningún caso ($p>0,05$). A los 30 días de maduración, se puede observar una leve tendencia de menores pH en los quesos con la cepa L73. Sin embargo, los niveles finales estuvieron en el rango normal para este queso.

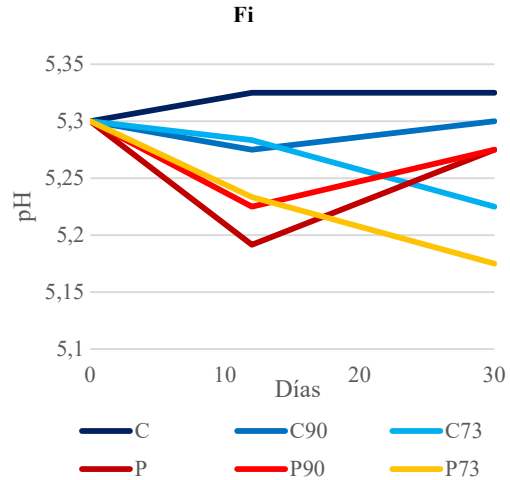


Figura 1. Evolución del pH de los quesos a lo largo de la maduración.

Los resultados obtenidos reflejan que ninguno de los dos factores estudiados tuvo un impacto en la composición y pH de los quesos y que las estrategias evaluadas no condujeron a la aparición de defectos tales como elevada post-acidificación o formación de ojos debido a la fermentación de carbohidratos residuales o citrato por las NSLAB o adjuntos. Estos defectos pueden ser ocasionados por fermentos primarios o adjuntos muy acidificantes o cepas gasógenas, respectivamente (Giménez *et al.*, 2021).

Tabla 1. Composición global de los quesos.

Quesos	%H	%G	%P
C	52,9 ± 1,5	25,5 ± 1,8	19,1 ± 0,3
C90	52,0 ± 0,2	25,1 ± 0,9	20,4 ± 1,8
C73	50,8 ± 1,1	26,1 ± 1,0	20,6 ± 0,13
P	51,5 ± 0,5	25,8 ± 0,5	20,2 ± 0,04
P90	51,5 ± 0,1	25,2 ± 0,3	20,8 ± 0,5
P73	51,1 ± 0,4	25,8 ± 0,2	20,6 ± 0,06

Recuentos microbiológicos

El starter se mantuvo en niveles similares, alrededor de $9,6 \log \text{ UFC/g}$, en todos los quesos. Asimismo, las bacterias coliformes se encontraron en niveles menores a los máximos establecidos en la legislación nacional ($<4 \log \text{ UFC/g}$). Ninguno de los factores estudiados tuvo una influencia significativa en el nivel de starter y coliformes (datos no mostrados).

En cuanto a los fermentos adjuntos (Figura 2), ambas cepas alcanzaron niveles entre $7,4$ y $8,0 \log \text{ UFC/g}$, tanto en los quesos C como en los P, y se mantuvieron sin cambios durante la maduración. De esta manera, se corroboró una excelente viabilidad de los fermentos adjuntos autóctonos, crecidos en medios de cultivo

optimizados en el INLAIN y posteriormente liofilizados. Además, la incorporación de LPD no afectó la viabilidad de ninguna de las dos cepas evaluadas.

En los quesos sin adición de fermentos adjuntos, se observaron niveles de NSLAB entre 2,4 y 4,2 log UFC/g, los cuales fueron significativamente ($p < 0,05$) mayores en los quesos P, demostrando un efecto de la incorporación de LPD en el crecimiento de este grupo microbiano adventicio. Estos resultados se pueden correlacionar con el incremento de nutrientes fermentables aportado por la LPD (ver siguiente ítem de carbohidratos y ácidos orgánicos), los que pueden ser utilizados por la flora NSLAB para su crecimiento y la potencial aparición de defectos relacionados a su actividad metabólica específica. Sin embargo, en un trabajo previo hemos corroborado que, más allá de la presencia de una microflora alterante, es crucial el mantenimiento de una correcta cadena de frío durante el almacenamiento y comercialización de los productos para evitar el desarrollo de defectos por la flora adventicia presente (Giménez *et al.*, 2021). En el presente trabajo, los quesos fueron mantenidos a 4-6°C durante toda la maduración.

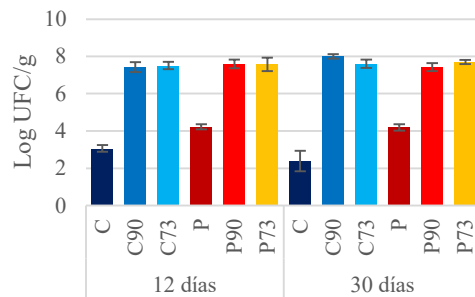


Figura 2. Evolución de la población de los cultivos adjuntos (L90 y L73) y de NSLAB en los quesos sin adición de adjunto (C y P). Se presentan los valores medios \pm desviación estándar.

Carbohidratos y ácidos orgánicos

En la Figura 3 se presentan los resultados de carbohidratos y ácidos orgánicos en los quesos durante la maduración. La adición de LPD incrementó significativamente ($p < 0,05$) en los quesos el nivel de compuestos presentes en este polvo: lactosa y los ácidos cítrico y orótico. Asimismo, la galactosa, que se produce a partir de la lactosa por la actividad acidificante del starter *S. thermophilus* y que se acumula en este tipo de queso debido a que el starter empleado no tiene la habilidad de fermentarla, también mostró mayores valores en los quesos con LPD a los 12 y 30 días de maduración. El ácido láctico también se

incrementó en los quesos con LPD a los 12 días, probablemente debido al mayor nivel de carbohidratos fermentables. Sin embargo, el nivel de este ácido fue similar en todos los quesos al final de la maduración.

El F2 no tuvo influencia significativa en los niveles de los azúcares ni del ácido cítrico, lo que demuestra que ninguna de las dos cepas de fermentos adjuntos evaluadas tuvo la habilidad de metabolizar en forma significativa estos compuestos en los quesos. Sin embargo, en otros modelos de queso, estas cepas han mostrado un efecto diferente (Peralta y col., 2016; Cuffia, 2016), lo que refleja la influencia de la matriz en la actividad metabólica microbiana. En el presente trabajo, es probable que la presencia de altos niveles de carbohidratos residuales, sobre todo en los quesos con LPD, haya inhibido la capacidad de L90 y L73 de metabolizar el citrato. En efecto, ha sido demostrado que el nivel de carbohidratos presentes puede afectar la capacidad de lactobacilos mesófilos de metabolizar este ácido (Medina de Figueroa, *et al.*, 2000).

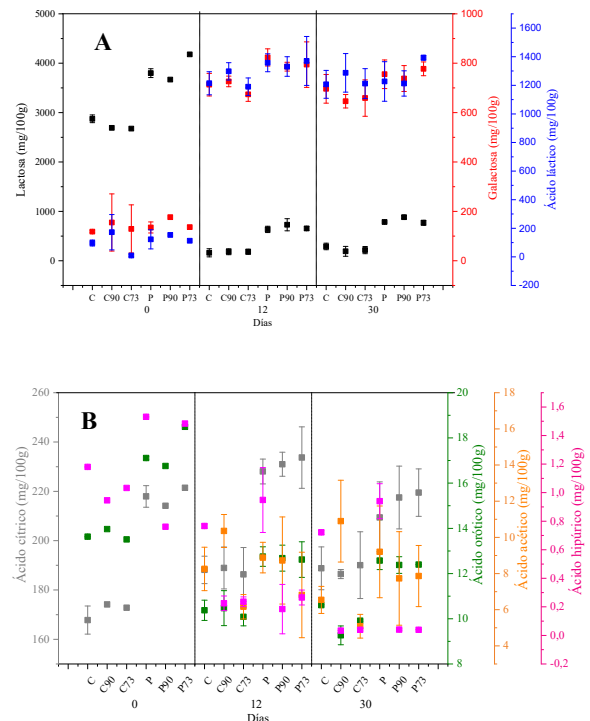


Figura 3. Carbohidratos y ácidos orgánicos en los quesos a 0, 12 y 30 días de maduración. A- Lactosa, galactosa y ácido láctico, B-Ácidos: cítrico, acético, orótico e hipúrico. Se presentan los valores medios \pm desviación estándar, expresados en mg/100 g queso.

Por otro lado, el fermento adjunto sí mostró un impacto en los niveles de ácido hipúrico, el cual disminuyó significativamente en los quesos con

las cepas L90 y L73, demostrando la capacidad de las mismas de usar este compuesto para su crecimiento. Se ha reportado que el metabolismo de este ácido por las bacterias lácticas puede generar ácido benzoico, el cual es un agente conservante. Esta actividad metabólica ha sido demostrada previamente para un cultivo liofilizado de la cepa L90 luego de su crecimiento en un medio comercial, y adicionada en queso Cremoso miniatura (Giménez *et al.*, 2021). Asimismo, se observó un efecto del adjunto en el nivel de orótico, sólo al final de la maduración, siendo menores los valores para los quesos con Lp90. En relación al ácido acético, los niveles fueron mayores en los quesos con L90 que en los sin adjunto solamente a los 12 días de maduración, mientras que no hubo diferencias en este ácido en los quesos al final de la maduración.

Perfiles peptídicos

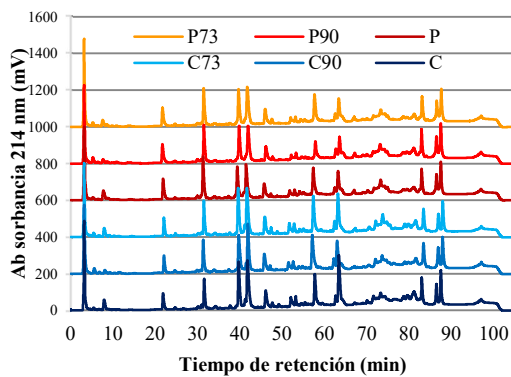


Figura 4. Perfiles peptídicos obtenidos por HPLC de una réplica de los quesos a los 30 días de maduración

Los perfiles peptídicos de las cuajadas (0 días) presentaron muy pocos picos, mientras que los quesos a los 12 y 30 días de maduración mostraron un perfil más complejo con un mayor número y tamaño de picos, reflejando el avance típico de la proteólisis durante la maduración. En la Figura 4 se presentan los perfiles de una de las réplicas de elaboración a los 30 días de maduración, que fueron similares a los de las otras réplicas.

Los cromatogramas se evaluaron visualmente y se observaron diferencias debido a ambos factores estudiados. En particular, la incorporación de LPD produjo una disminución de los picos que eluyen alrededor de los 40 min y de los 58-64 min, y un aumento del pico que eluye alrededor de los 30 min.

Por otro lado, la adición de los fermentos adjuntos también tuvo un impacto en estos perfiles, lo que demuestra la actividad peptidolítica de los mismos. En este sentido, se observó que la cepa L90 disminuyó la altura de los picos con tiempo de retención alrededor de 9 y 64 min, e incrementó un pico inicial que eluye aprox a los 5 min. La cepa L73 demostró un efecto menor con leve incremento principalmente de este pico inicial.

La proteólisis es un evento importante en este tipo de queso, con gran influencia en la textura y flavour. Durante este proceso se hidrolizan proteínas y péptidos grandes incrementando el número y nivel de péptidos medianos y pequeños y aminoácidos libres. Cada pico que se observa en los perfiles corresponde a un péptido o grupo de péptidos similares; los perfiles a distintos tiempos durante la maduración reflejan el complejo equilibrio entre su producción y su posterior degradación a aminoácidos (Pripp, *et al.*, 2000). En general, debido a las características del método HPLC utilizado, los péptidos más hidrofílicos, incluidos los aminoácidos libres, salen en la primera parte del cromatograma, mientras que los más hidrofóbicos salen más tardíamente. En el queso Cremoso es normal el incremento de la mayor parte de los picos a lo largo del cromatograma como consecuencia de la proteólisis durante la maduración. Sin embargo, también es normal que algunos picos disminuyan durante este proceso lo que refleja su hidrólisis para dar otros péptidos (Milesi, 2009). Teniendo esto en cuenta, los resultados obtenidos reflejan una leve disminución de la proteólisis debido a la incorporación de LPD. Es importante destacar que uno de los agentes proteolíticos más importantes que actúa durante la maduración es la enzima coagulante residual. En los quesos elaborados, se utilizó una misma dosis de coagulante por volumen de leche, tanto en los quesos con o sin LPD. Esto origina que el nivel de coagulante por unidad de caseína sea menor en los quesos con LPD, lo que probablemente afectó el nivel residual de la misma en los quesos, conduciendo al efecto observado.

En relación a la incorporación de cultivos adjuntos, la influencia de los mismos en la proteólisis es debido a su actividad peptidolítica que produce en general un incremento del nivel de péptidos pequeños y aminoácidos libres (McSweeney, 2004). El incremento del pico inicial observado para los quesos con adjuntos, principalmente para la cepa L90, refleja un leve impacto de las peptidasas de los fermentos evaluados en la peptidólisis.

Perfil de textura y capacidad de fusión

Los parámetros de dureza y masticabilidad fueron afectados por los factores estudiados (Tabla 2). En particular, se observó una influencia significativa de la interacción de ambos factores en la dureza, la cual fue mayor en P90 y menor en C90. La dureza en los otros quesos mostró valores intermedios. Por otro lado, el F1 mostró un impacto en la masticabilidad, incrementándose la misma debido a la adición de LPD.

Los otros parámetros de textura evaluados no fueron afectados por los factores estudiados y mostraron los siguientes rangos de valores: IREI: 0,29-0,38; IREER: 0,35-0,38; Cohesividad: 0,64-0,68; Resiliencia: 0,30-0,38; Adhesividad (J): 0,73-2,98.

Tabla 2. Resultados del análisis de textura (dureza y masticabilidad) y análisis sensorial (aceptabilidad) de los quesos a los 30 días de maduración (valores medios \pm desviación estándar).

	Dureza (N)	Masticabilidad (N)	Aceptabilidad	
Quesos	C	8,6 \pm 1,5 ^{CD}	2,0 \pm 0,2 ^A	6,9 \pm 1,1 ^{Ab}
	C90	6,4 \pm 0,3 ^D	1,6 \pm 0,2 ^A	7,1 \pm 0,9 ^{Aab}
	C73	10,0 \pm 1,5 ^{CD}	2,3 \pm 0,2 ^A	7,6 \pm 0,9 ^{Aa}
	P	10,5 \pm 1,5 ^{CD}	2,6 \pm 0,4 ^B	7,2 \pm 1,1 ^{Bb}
	P90	11,5 \pm 1,9 ^C	2,6 \pm 0,3 ^B	7,3 \pm 0,9 ^{Bab}
	P73	9,9 \pm 1,0 ^{CD}	2,3 \pm 0,4 ^B	7,4 \pm 1,1 ^{Ba}
Significancia	F1	*	*	*
	F2	NS	NS	*
	F1xF2	*	NS	NS

^{A,B} Valores con diferente superíndice en una columna difieren significativamente ($p < 0,05$) para F1.

^{a,b} Valores con diferente superíndice en una columna difieren significativamente ($p < 0,05$) para F2.

^{c,d} Valores con diferente superíndice en una columna difieren significativamente ($p < 0,05$) para F1 \times F2.

Por otro lado, la capacidad de fusión de los quesos (Figura 5) no fue afectada por ninguno de los factores estudiados ($p > 0,05$). Sin embargo, se observó una tendencia a una leve disminución de la fusión en los quesos adicionados de LPD.

La proteólisis de los quesos Cremoso tiene una influencia significativa en las propiedades de fusión y en los parámetros de textura (Hynes, *et al.*, 1999). Los resultados de proteólisis se correlacionan con los de textura y fusión. En general, menor nivel de proteólisis condujo a un incremento en la masticabilidad y dureza y una leve menor fusión.

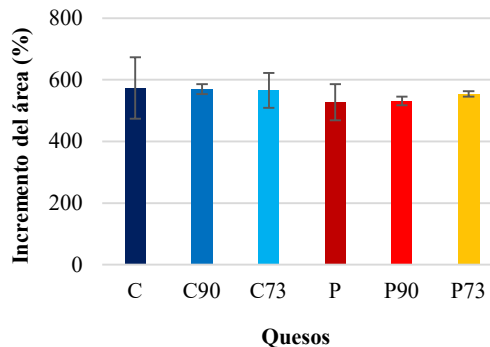


Figura 5. Incremento porcentual del área de un cilindro de queso sometido a calentamiento en estufa. Se presentan los valores medios \pm desviación estándar.

Análisis sensorial

Se encontraron diferencias significativas en la aceptabilidad de los quesos elaborados de acuerdo a ambos factores estudiados. Como puede observarse en la Tabla 2, los resultados del gusto general fueron mayores ($p < 0,05$) para los quesos con LPD y para los quesos adicionados de la cepa 73. La adición de la cepa L90 no tuvo efecto en la aceptabilidad, resultando los valores similares a los quesos sin adjunto. Si bien no se observó un efecto positivo de esta cepa en el gusto general, tampoco generó defectos que afecten negativamente la aceptabilidad de los quesos.

Los resultados obtenidos reflejan un impacto positivo de las estrategias evaluadas en la aceptabilidad de los quesos.

4. Conclusiones

La incorporación de LPD a la leche de quesería permite incrementar la capacidad operativa de una planta quesera y afecta sólo levemente algunas características de los quesos elaborados. En particular, el uso de leche enriquecida incrementó el nivel de carbohidratos y algunos ácidos; también produjo un incremento en el nivel de las NSLAB, que se mantuvo igualmente en niveles bajos ($\sim 4,3$ log UFC/g) y no sólo no produjo defectos sensoriales, sino que incrementó la aceptabilidad de los productos. Asimismo, la adición de LPD generó un leve incremento de la masticabilidad y dureza y una pequeña disminución de la fusión, lo que probablemente sea consecuencia del impacto observado en la

proteólisis, la cual fue levemente menor en estos quesos.

Por otro lado, los fermentos adjuntos evaluados fueron capaces de mantener una elevada viabilidad en los quesos durante la maduración, lo que permite por competencia controlar el desarrollo de NSLAB adventicias. Además, la cepa L73 mostró un impacto beneficioso en la aceptabilidad de los quesos, mientras que la cepa L90 incrementó la peptidólisis y afectó la textura en forma diferencial en los quesos con o sin LPD. Finalmente, debido a la ausencia de influencia en los perfiles de fermentación, los adjuntos no ocasionaron defectos de postacidificación o formación de ojos no deseados.

5. Referencias

- Ares, G., Alcaire, F., Antúnez, L., Vidal, L., Giménez, A., & Catsura, J. (2017). *Identification of drivers of (dis) liking based on dynamic sensory profiles: Comparison of Temporal Dominance of Sensations and Temporal Check-all-that-apply*. Food Research International, 92, 79-87.
- Batistela, M. E.; Peralta, G.H.; Ale, E.C.; Wolf, V.I.; Hynes, E.R.; Bergamini, C.V. (2021). *Producción de fermentos: optimización, validación y caracterización de un medio de cultivo formulado a base de permeado de suero de queso*. V Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental, 15 al 17 septiembre de 2021.
- Bradley, R. L.; Arnold, E.; Barbano, D. M.; Semerad, R. G.; Smith, D. E. and Vines, B. K. (1993). *Chemical and physical methods. In Standard methods for the examination of dairy product*, 433-53. Marshall R, ed. Washington: American Public Health Association.
- Broadbent, J.R.; Budinich, M.F.; Steele, J.L. (2011). "Cheese | Non-Starter Lactic Acid Bacteria". In: Fuquay J, Fox PF, McSweeney PLH (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second edition (639-644). Academic Press, UK.
- Casas-Alencáster, N. B.; Pardo-García, D. G. (2005) *Análisis de perfil de textura y propiedades de relajación de geles de mezclas almidón de maíz ceroso entrecruzado-gelana*, Revista Mexicana de Ingeniería Química, 4 (1), 107-121. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa Distrito Federal, México.
- Cuffia F. (2016) *Biogeneración de aroma por fermentos primarios y adjuntos de bacterias lácticas en quesos duros*. Tesis de Doctorado en Tecnología Química. Universidad Nacional del Litoral.
- Giménez, P.; Perotti, M.C.; George, G.; Spotti, M.L.; Quintero, J.P.; Caballero M.S.; Hynes, E.R.; Bergamini, C.V. (2021). *Queso cremoso elaborado con leche adicionada de leche en polvo*. 6to Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos, Universidad Nacional de Misiones, Argentina.
- Guinee, T.P.; Gorry, C.B.; O'Callaghan, D.J.; O'Kennedy, B.T.; O'Brien, N.; Fenelon, M.A. (1997). *The effects of composition and some processing treatments on the rennet coagulation properties of milk*. International Journal of Dairy Technology. 50 99–106.
- Guinee, T.P.; O'Kennedy, B.T.; Kelly P.M. (2006). *Effect of milk protein standardization using different methods on the composition and yields of Cheddar cheese*. Journal of Dairy Science, 89, 468-482
- ISO (2004). *Cheese and processed cheese – determination of the total solids content*. (Reference method). ISO 5534-IDF 4. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2007). *Sensory analysis: General guidance for the design of test rooms*. ISO Standard 8589. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2008). *Cheese – determination of fat content – Van Gulik method*. ISO 3433-IDF 222. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (2011). *Milk and milk products – determination of nitrogen content – part1: Kjeldahl principle and crude protein calculation*. ISO 8968-IDF 20. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Johnston, K.A.; Barclay, A.B.; Honoré, C. (2010). *A brief history of innovation in New Zealand cheesemaking*. Australian Journal of Dairy Technology, Special issue: Cheese science 2010 Proceedings, 65, 122-127.
- Hynes, E.; Delacroix-Buchet, A.; Meinardi, C. A. y Zalazar, C. A. (1999). *Relation between pH, degree of proteolysis and consistency in soft cheese*. Australian Journal of Dairy Technology. 54, 24-27.

- Hynes, E. R.; Bergamini, C. V.; Suárez, V. B. and Zalazar, C. A. (2003). *Proteolysis on Reggianito Argentine Cheeses manufactured with natural whey cultures and selected strains of Lactobacillus helveticus*. Journal of Dairy Science, 86, 3831-3840.
- Medina de Figueroa, R.; Álvarez, E.; Pesce de Ruiz Holgado, A.; Oliver, G. y Sesma, E. (2000). *Citrate utilization by homo- and heterofermentative lactobacilli*. Microbiological Research, 154, 313–320.
- McSweeney, P. L. H. y Fox, P. F. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects; Cap. 14.2: Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate (Eds.: Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H.; Cogan, T. y Guinee, T.). Academic Press, Estados Unidos, pág. 361-371.
- Milesi, M.M.; McSweeney, P.L.H.; Hynes, E. (2008). *Impact of Chymosin- and Plasmin-mediated Primary Proteolysis on the Growth and Biochemical Activities of Lactobacilli in Miniature Cheddar-type Cheeses*. Journal of Dairy Science, 91, 3277-3290.
- Milesi, M. M. (2009). Desarrollo de fermentos adjuntos para quesería a partir de bacterias lácticas no pertenecientes al fermento. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Milesi, M.M.; Wolf, V.; Bergamini, C.V.; Hynes, E.R. (2010). *Two strains of non-starter lactobacilli increased the production of flavour compounds in soft cheeses*. Journal of Dairy Science, 93, 5020-5031.
- Muthukumarappan, K.; Wang, Y.C. and Gunasekarant, S. (1999). Short Communication: *Modified Schreiber Test for Evaluation of Mozzarella Cheese Meltability*. Journal of Dairy Science, 82, 1068-1071.
- Oh, S.; Lee, H.; Myung, J.; Joung, J.; Lee, J.; Shin, Y.; Baick, S. (2014). *Effects of temperature and supplementation with skim milk powder on microbial and proteolytic properties during storage of Cottage Cheese*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 24 (6), 795-802.
- Peralta, G.H.; Wolf, I.V.; Perotti, M.C.; Bergamini, C.V.; Hynes, E.R. (2016). *Formation of volatile compounds, peptidolysis and carbohydrate fermentation by mesophilic lactobacilli and streptococci cultures in a cheese extract*. Dairy Science and Technology, 96, 603-621.
- Peralta, G. H.; Bergamini, C. V.; Audero, G.; Páez, R.; Wolf, V. I.; Perotti, M. C.; Hynes, E. R. (2017). *Spray-dried adjunct cultures of autochthonous non-starter lactic acid bacteria*. International Journal of Food Microbiology, 255, 17-24.
- Tripp, A. H.; Stepaniak, L. y Sørhaug, T. (2000). *Chemometrical analysis of proteolytic profiles during cheese ripening*. International Dairy Journal.10, 249-253.
- Shakeel-Ur-Rehman, Farkye, N.Y.; Considine, T.; Schaffner, A.; Drake, M.A. (2003). *Effects of standardization of whole milk with dry milk protein concentrate on the yield and ripening of reduced-fat Cheddar cheese*. Journal of Dairy Science, 86, 1608-15.
- Wichchukit, S., & O'Mahony, M. (2014). *The 9-point hedonic scale and hedonic ranking in food science: some reappraisals and alternatives*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95 (11), 2167-2178.
- Yvon, M. (2006). *Key enzymes for flavour formation by lactic acid bacteria*. Australian Journal of Dairy Technology 61, 16-24.