



XVIII CONGRESO ARGENTINO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

IX SIMPOSIO INTERNACIONAL DE NUEVAS TECNOLOGÍAS

VII SIMPOSIO LATINOAMERICANO SOBRE HIGIENE Y CALIDAD DE ALIMENTOS

V SIMPOSIO DE INNOVACIÓN EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Libro de trabajos completos

XVIII CONGRESO ARGENTINO DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

XVIII CyTAL[®] 2023

Innovación, sustentabilidad y productividad
en la transformación del sistema alimentario



Asociación Argentina
de Tecnólogos Alimentarios



FACULTAD DE INGENIERÍA
Y CIENCIAS AGRARIAS



Agencia I+D+i

Libro de trabajos completos XVIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos XVIII CyTAL® 2023 / Stella Maris Alzamora, María del Pilar Buera, Ricardo Castellano, Paula Sol Pok, Silvia Mónica Raffellini, Emilia Elisabeth Raimondo, Susana Emilia Socolovsky, Sergio Ramón Vaudagna, Susana Leontina Vidales, Angela Zuleta

1a ed compendiada. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios - AATA, 2024.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-47615-4-5

1. Tecnología de los Alimentos. I. Alzamora, Stella Maris [et al.].

CDD 641.3002

ISBN 978-987-47615-4-5



1060. INFLUENCIA DEL TIEMPO DE SALADO, COAGULANTE Y FERMENTO EN LA COMPOSICIÓN, RECUENTOS MICROBIANOS Y PERFIL DE MADURACIÓN DE QUESO TIPO PATEGRÁS.

Batistela, Mara E.¹; Peralta, Guillermo H.¹; Giménez, Paula¹; Pozza, Leila¹; Caballero, María S.¹; Bergamini, Carina V.¹

1. Instituto de Lactología Industrial (INLAIN-UNL/CONICET). Santa Fe, Argentina.

E-mail: mbatistela@fcb.unl.edu.ar

RESUMEN

Ante la demanda incrementada de alimentos más saludables, la industria quesera se ha enfocado en la reformulación de quesos para disminuir el contenido de nutrientes críticos como el sodio. Sin embargo, esta reducción puede afectar la calidad organoléptica, la textura e incluso la inocuidad del producto. En particular, la sal tiene un impacto significativo en la inhibición de microorganismos contaminantes y en las actividades enzimáticas involucradas en la maduración del queso, por lo que el efecto de su disminución puede variar según el fermento y coagulante empleado. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del tiempo de salado en salmuera (SN: tiempo de salado normal; SR: ½ del tiempo de salado normal; SS: sin etapa de salado), del coagulante (H: quimosina de camello; D: quimosina bovina, ambos en un nivel de 34 IMCU/L) y fermento primario (F1: *Streptococcus thermophilus*; F2: *Streptococcus thermophilus*+*Lactobacillus helveticus*) en la composición, los perfiles de maduración (ácidos orgánicos, azúcares y proteólisis) y la calidad microbiológica de queso tipo Pategrás a los 60 días de maduración. Los quesos presentaron diferencias significativas en la humedad en función del nivel de salado (SN-SR<SS) y hubo interacción entre fermento y coagulante. El pH fue menor en los quesos con F2, y entre ellos los menores valores se observaron para los quesos SS. Asimismo, el consumo de lactosa fue mayor en todos los quesos SS; no obstante, no hubo diferencia en la concentración de ácido láctico. Menores niveles de ácido cítrico se observaron en los quesos SS respecto a SN, mientras que el ácido hipúrico fue consumido casi totalmente en los quesos con F2. Los recuentos de las bacterias lácticas totales no mostraron diferencias significativas según los factores estudiados, pero sí se observó que el coagulante influyó en los recuentos en MRS siendo mayor en los quesos con H. La presencia de *Lactobacillus helveticus* en los quesos con F2 se detectó en MRS acidificado sin presentar diferencias según el salado ni el coagulante. Los recuentos de coliformes, enterococos, hongos y levaduras fueron inferiores a 2 log UFC/g en todos los quesos; ninguno de los factores estudiados influyó en estos resultados. En la proteólisis, se observó una influencia significativa del coagulante: los quesos D tuvieron un mayor nivel de nitrógeno soluble a pH 4,6. En cuanto a la influencia del salado, se observaron niveles levemente mayores en los quesos SS solamente cuando se usó el F1. Se concluye que las tres variables estudiadas tuvieron un impacto en las propiedades de los quesos; en particular, se observó que algunos cambios producidos por la reducción de sal dependieron principalmente del fermento empleado. De esta manera, para obtener un perfil de maduración deseado y estable en queso Pategrás con menor contenido de sodio se puede seleccionar el fermento más adecuado. Asimismo, se demostró que es posible elaborar quesos sin sal y con bajos

niveles de microorganismos contaminantes; si bien la sal ejerce control microbiano, otros parámetros también son importantes como la calidad microbiológica de la leche, las contaminaciones y la actividad del fermento.

Palabras clave: QUESO SEMIDURO, SALADO, COAGULANTE, FERMENTO.

1. Introducción

La disminución del contenido de sodio en quesos trae aparejado varias dificultades tecnológicas debido a que la sal cumple con importantes funciones como la de favorecer el desuerado residual, realzar el perfil de sabor y aroma, regular la textura, pH y actividad acuosa. También modula la actividad de la microbiota del queso durante la elaboración y maduración, impactando en la calidad del producto final. Por lo tanto, cualquier modificación del procedimiento de salado, ya sea adicionando menor cantidad de cloruro de sodio o reemplazándolo con otros agentes, puede afectar el delicado equilibrio de los parámetros mencionados, lo que implica cambios en la calidad del queso. Una manera de sortear estos inconvenientes es abordar la reformulación de manera diferente según el tipo de queso y la tecnología a emplear (de pasta blanda, de pasta dura, etc.). En consecuencia, podrían implementarse estrategias específicas para mantener la calidad y la seguridad de los diferentes tipos de quesos (Tidona y col., 2022).

La variación de los cultivos primarios y el uso de cultivos adjuntos en quesería, tales como los cultivos bioprotectores o mejoradores de aroma, podrían ser claves para compensar las modificaciones de la reducción de sal en el queso. En este mismo sentido, el uso de diferentes coagulantes puede ofrecer una actividad proteolítica y peptidolítica diferente limitando la producción de péptidos amargos e incrementado el nivel de compuestos potenciadores del sabor (Møller y col., 2013). En el presente trabajo se estudió el efecto del tiempo de salado, coagulante y fermento en la composición, recuentos microbianos y perfil de maduración de quesos tipo Pategrás.

2. Materiales y Métodos

2-1. Diseño experimental

Se evaluó el impacto de 3 factores: coagulante en dos niveles (H: quimosina de camello, Chr. Hansen; D: quimosina bovina, Danisco, ambos adicionados en un nivel de 34 IMCU/L), fermento en dos niveles (F1: *Streptococcus thermophilus*; F2: *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus helveticus*), y nivel de salado en tres niveles (SN: tiempo de salado normal; SR: ½ del tiempo de salado normal; SS: sin etapa de salado) en la

composición, los perfiles de maduración (ácidos orgánicos, azúcares y proteólisis) y la calidad microbiológica de quesos tipo Pategrás a los 60 días de maduración como se indica en la **Tabla 1**. Los quesos fueron elaborados por triplicado.

Tabla 1. Diseño experimental

	<i>Fermento 1: St</i>		<i>Fermento 2: St + Lh</i>	
	Coagulante H	Coagulante D	Coagulante H	Coagulante D
<i>Salado normal (SN)</i>	1SNH	1SND	2SNH	2SND
<i>Reducido en sal (SR)</i>	1SRH	1SRD	2SRH	2SRD
<i>Sin sal (SS)</i>	1SSH	1SSD	2SSH	2SSD

2-2. Elaboraciones de quesos

Los quesos semiduros fueron elaborados según el protocolo descrito por Peralta y col. (2023) empleando 1 L de leche para cada queso. La leche cruda provista por una empresa láctea cercana (Milkaut, Santa Fe), fue pasteurizada en un sistema discontinuo (63°C-30min). Inmediatamente luego del tratamiento, se adicionó cloruro de calcio al 0,02% p/v y el fermento a un nivel de 10^6 UFC/mL (según diseño descripto: **St** o **St+Lh**). Posteriormente, se adicionó el coagulante según el diseño experimental (**H** o **D**). La leche se dejó coagulando en reposo a 37°C, y cuando la cuajada alcanzó la firmeza adecuada se procedió a realizar el corte y reducción de los granos de cuajada a un tamaño similar al del maíz. Luego se incrementó la temperatura hasta llegar a los 45°C, y una vez alcanzada la humedad de grano deseada, la cuajada se moldeó y los quesos se acidificaron en cámara a 45°C hasta un pH de 5,3. Los quesos fueron salados por inmersión en salmuera (23% p/v, 4°C) según el diseño mencionado para obtener los tres tipos de quesos (**SN**, **SR** y **SS**). Los quesos se orearon a 8°C durante 5 días, se pintaron y luego se envasaron al vacío para posteriormente ser madurados durante 60 días a 8°C, luego de lo cual fueron muestreados y analizados.

2-3. Análisis de los quesos

2-3-1 Composición global, pH, contenido de cenizas, calcio y sodio

La composición global (humedad, materia grasa y proteínas) y el pH se analizaron mediante métodos normalizados: sólidos totales (ISO 5534|IDF 004:2004), grasa (ISO 3433|IDF 222:2008), proteínas (ISO 8968-1/IDF 20-1:2011) y pH (Bradley y col., 1993). Se determinó el contenido de cenizas luego de la calcinación de la muestra de queso en mufla a 500°C. La concentración de sodio se determinó utilizando el electrodo ROSS®

Sodium Ion Selective Electrode y el contenido de calcio se evaluó empleando el electrodo ion selectivo Orion 9720BNWP (Thermo Scientific, USA).

2-3-2 Recuentos microbiológicos

Se realizaron recuentos en APC-leche y MRS agar pH 5,4 (37°C, 48h, en condiciones microaerófilas) para el recuento de las bacterias lácticas totales y el recuento de *L. helveticus* del fermento 2, respectivamente; el recuento en MRS agar pH 5,4 en los quesos con el fermento 1 representa principalmente las bacterias lácticas no provenientes del fermento (NSLAB). El nivel de bacterias coliformes fue analizado en VRBL (agar violeta rojo bilis lactosa, 32°C, 24h). El nivel de mohos y levaduras se evaluó en agar YGC (agar Cloranfenicol Glucosa, 28°C, 7 días). Finalmente, el nivel de *Enterococcus* se evaluó en agar BEA (Agar bilis esculina, 37°C, 48h).

2-3-3 Carbohidratos y ácidos orgánicos

Los niveles de azúcares y ácidos orgánicos fueron analizados por HPLC según Peralta y col. (2017).

2-3-4 Evaluación de la proteólisis

El seguimiento de la proteólisis se realizó mediante el análisis del nivel de nitrógeno en la fracción soluble a pH 4,6 (que en función de la proteína total permite obtener el grado de maduración) y de los perfiles peptídicos mediante HPLC de fase reversa (Hynes y col., 2003).

2-5. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante ANOVA multifactorial con factores fijos ($p=0,05$) para determinar la influencia del factor de nivel de salado, el tipo de coagulante y fermento empleado en los parámetros evaluados. Las diferencias entre medias se determinaron mediante el test de Tukey. Para el análisis estadístico se utilizó el software de dominio público R.

3-Resultados y discusión

3-1. Composición global, pH, contenido de cenizas, calcio y sodio

Los pesos de los quesos y los resultados del contenido de humedad, grasa y proteína son mostrados en la **Tabla 2** y **Fig. 1**, respectivamente. Se observaron diferencias significativas en el peso de los quesos según el nivel de salado ($SS>SN$), según el fermento ($2>1$) y la interacción del coagulante con el fermento ($2D>2H-1H>1D$).

Tabla 2. Pesos de los quesos semiduros elaborados luego de 60 días de maduración.

Queso	Peso (g)	Queso	Peso (g)
1SNH	114,6 ± 1,2	1SND	117,0 ± 3,2
1SRH	116,0 ± 1,5	1SRD	115,8 ± 3,1
1SSH	115,6 ± 2,0	1SSD	119,8 ± 0,8
2SNH	110,9 ± 1,6	2SND	119,9 ± 1,6
2SRH	113,8 ± 1,7	2SRD	121,0 ± 1,3
2SSH	114,0 ± 0,7	2SSD	120,9 ± 0,8

Los valores de humedad ($p < 0,05$) presentaron diferencias significativas debido al factor salado ($SS > SR > SN$) y al fermento ($2 > 1$). La materia grasa presentó diferencias significativas por el coagulante ($H > D$) y por la interacción entre el fermento y el coagulante ($2H > 1D - 1H > 2D$). En el caso de la proteína, las diferencias fueron por el fermento ($1 > 2$) y por la interacción entre el fermento y el coagulante ($1D > 2H$; $1H > 2D$; $1D > 2D$).

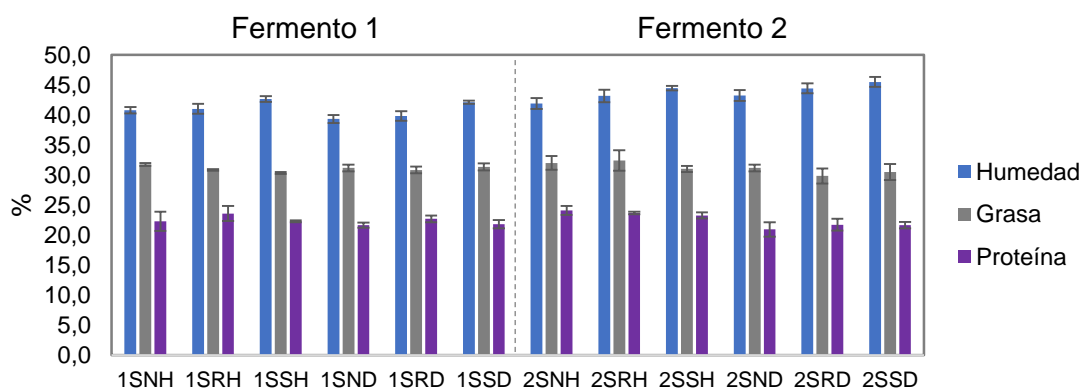


Fig. 1. Composición promedio de los quesos elaborados con diferente nivel de salado (SN, SR, SS), tipo de coagulante (H: — ; D: -) y fermento (1,2).

Por otro lado, los tres factores evaluados tuvieron un impacto significativo en el pH ($SN > SR > SS$; $D > H$; $1 > 2$); la interacción entre el fermento y el nivel de salado también fue significativa ($1SN - 1SR - 1SS > 2SN - 2SR > 2SS$) (**Fig. 2**). El menor pH en los quesos SS puede ser atribuido a una menor inhibición del crecimiento y actividad acidificante del starter debido a la ausencia de salado. Por otro lado, la presencia de *L. helveticus* en el fermento 2 condujo a una mayor acidificación en los quesos.

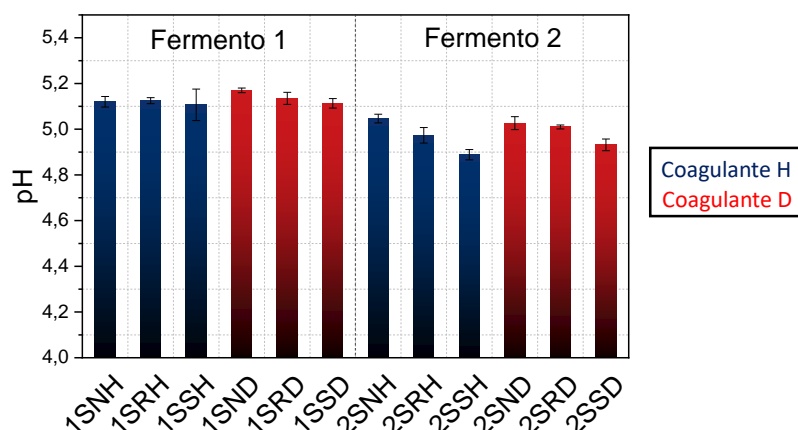


Fig.2. Valores de pH de los quesos con diferente nivel de salado (SN, SR, SS), tipo de coagulante (H, D) y fermento (1, 2).

En cuanto al nivel de sodio en los quesos, tal como se esperaba, fueron dependientes del tiempo de salado (SN>SR>SS) (**Tabla 3**). En el mismo sentido se observó que el porcentaje de cenizas fue diferente según el nivel de salado (SN>SR>SS) y también según el fermento empleado (1>2), con influencia por la interacción entre el coagulante y el fermento (1D>2D). En el caso del calcio, no hubo diferencias significativas.

Tabla 3. Contenido de cenizas, sodio y calcio en los quesos semiduros con diferente nivel de salado, tipo de coagulante y fermento.

Queso	Cenizas (%)	Sodio (%)	Calcio (%)
1SNH	3,83 ± 0,04	0,66 ± 0,05	1,79 ± 0,75
1SRH	3,45 ± 0,16	0,50 ± 0,01	1,42 ± 0,14
1SSH	2,48 ± 0,06	0,05 ± 0,01	1,48 ± 0,12
2SNH	3,87 ± 0,07	0,70 ± 0,02	1,12 ± 0,05
2SRH	3,72 ± 0,25	0,59 ± 0,05	1,05 ± 0,03
2SSH	2,49 ± 0,02	0,05 ± 0,00	1,02 ± 0,01
1SND	3,85 ± 0,22	0,68 ± 0,06	1,15 ± 0,78
1SRD	3,52 ± 0,16	0,52 ± 0,04	1,16 ± 0,57
1SSD	2,43 ± 0,04	0,07 ± 0,01	1,49 ± 0,06
2SND	3,63 ± 0,06	0,71 ± 0,07	1,03 ± 0,13
2SRD	3,33 ± 0,25	0,50 ± 0,06	1,05 ± 0,07
2SSD	2,45 ± 0,07	0,07 ± 0,01	1,12 ± 0,26

3-2. Recuentos microbiológicos

Los recuentos microbiológicos en APC (**Fig.3**) presentaron diferencias significativas en cuanto a la interacción del coagulante y el fermento (1H>1D-2H). Los recuentos en MRS

acidificado mostraron diferencias según el fermento empleado, lo que era lógico debido a que en este medio crece *L. helveticus* que fue adicionado como parte del fermento primario en los quesos con el fermento 2. En los quesos con el fermento 1, los recuentos en este medio representan NSLAB. En cuanto a los niveles de enterococos, coliformes, hongos y levaduras fueron en todos los quesos inferiores a $2e$ log UFC/g. Cabe destacar que los análisis microbiológicos fueron realizados a los 60 días de maduración, tiempo recomendado para madurar quesos sin pasteurización. El bajo pH en los tres tipos de quesos y el proceso de maduración son claves para controlar los microorganismos contaminantes.

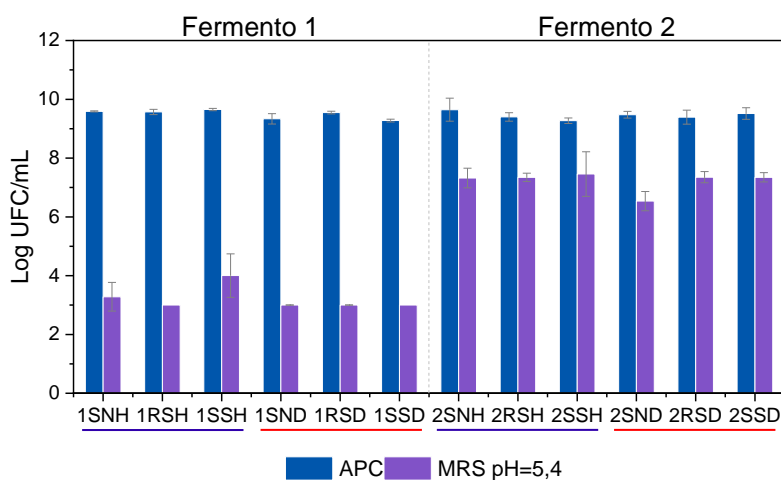


Fig.3. Recuentos microbiológicos en APC y MRS acidificado pH=5,4 para los quesos con diferente nivel de salado (SN, SR, SS), tipo de coagulante (H: - ; D: -) y fermento (1,2).

3-3. Carbohidratos y ácidos orgánicos

Los niveles de los carbohidratos y ácidos orgánicos se muestran en la **Fig. 4**. El nivel de salado tuvo un impacto significativo en el metabolismo de la lactosa ($SS < SR - SN$), del ácido cítrico y del ácido orótico (en ambos casos fue menor para SS respecto a SN). El nivel de lactosa también dependió del fermento y el de ácido cítrico dependió también del coagulante. Por otro lado, era esperable que el nivel de salado influya en la concentración de ácido láctico ya que la sal frena la actividad acidificante del fermento, pero el nivel de este ácido sólo fue influenciado por el coagulante. Respecto al ácido hipúrico, fue consumido casi totalmente en los quesos con el fermento 2, lo que refleja la capacidad de *L. helveticus* de metabolizarlo. Por otro lado, el ácido acético no mostró diferencias entre los quesos elaborados, mientras que la galactosa fue influenciada por el coagulante utilizado, y la interacción triple de los factores.

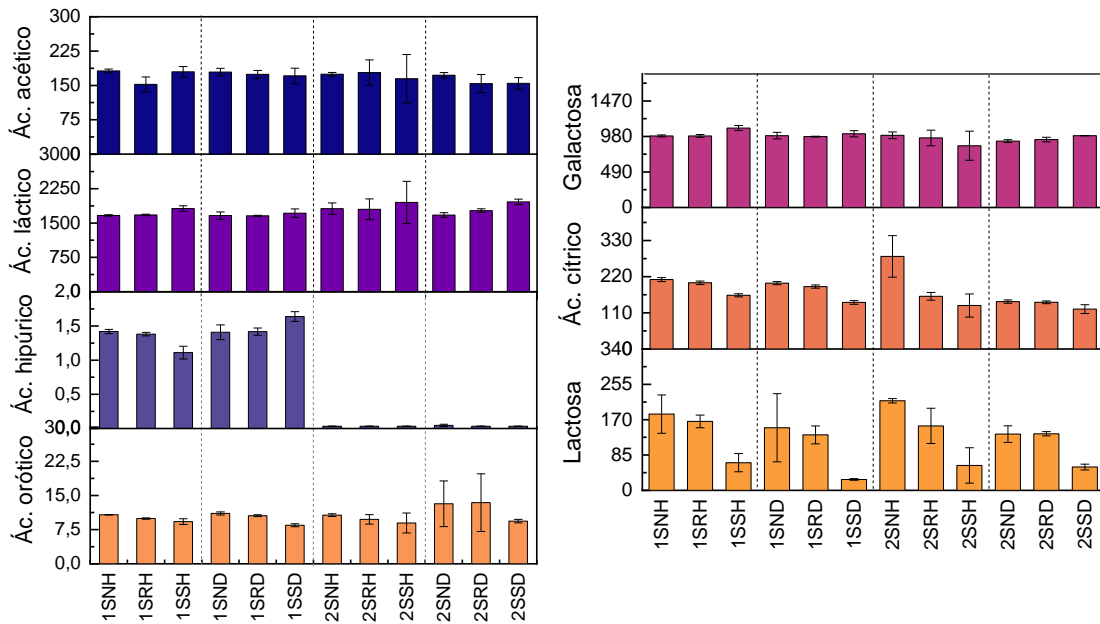


Fig.4. Niveles de carbohidratos y ácidos orgánicos en los quesos con diferente nivel de salado (SN, SR, SS), tipo de coagulante (H; D) y fermento (1,2)

3-4. Proteólisis

Los coagulantes se utilizaron en una dosis equivalente (34 IMCU/L leche), de tal modo de obtener tiempos de coagulación similares. Más allá de esto, se observó que este factor fue el que tuvo la mayor influencia en el grado de maduración de los quesos (**Fig.5**); los niveles fueron mayores para los quesos con el coagulante D. Se observó además una interacción significativa ($p < 0,05$) entre el fermento y el nivel de salado. Los quesos SS presentaron un valor promedio superior en cuando se usó el F1. En este mismo sentido, también se presentaron diferencias en los perfiles peptídicos (**Fig. 6**) principalmente según el tipo de coagulante observándose en general una mayor altura de la mayoría de los picos en los quesos con el coagulante D. Sin embargo, también hubo diferencias en algunos picos según el nivel de salado y el fermento empleado.

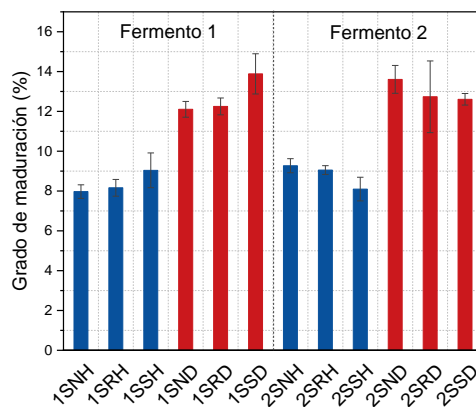


Fig.5. Grado de maduración de los quesos con diferente nivel de salado (SN, SR, SS), coagulante (H; D) y fermento (1;2).

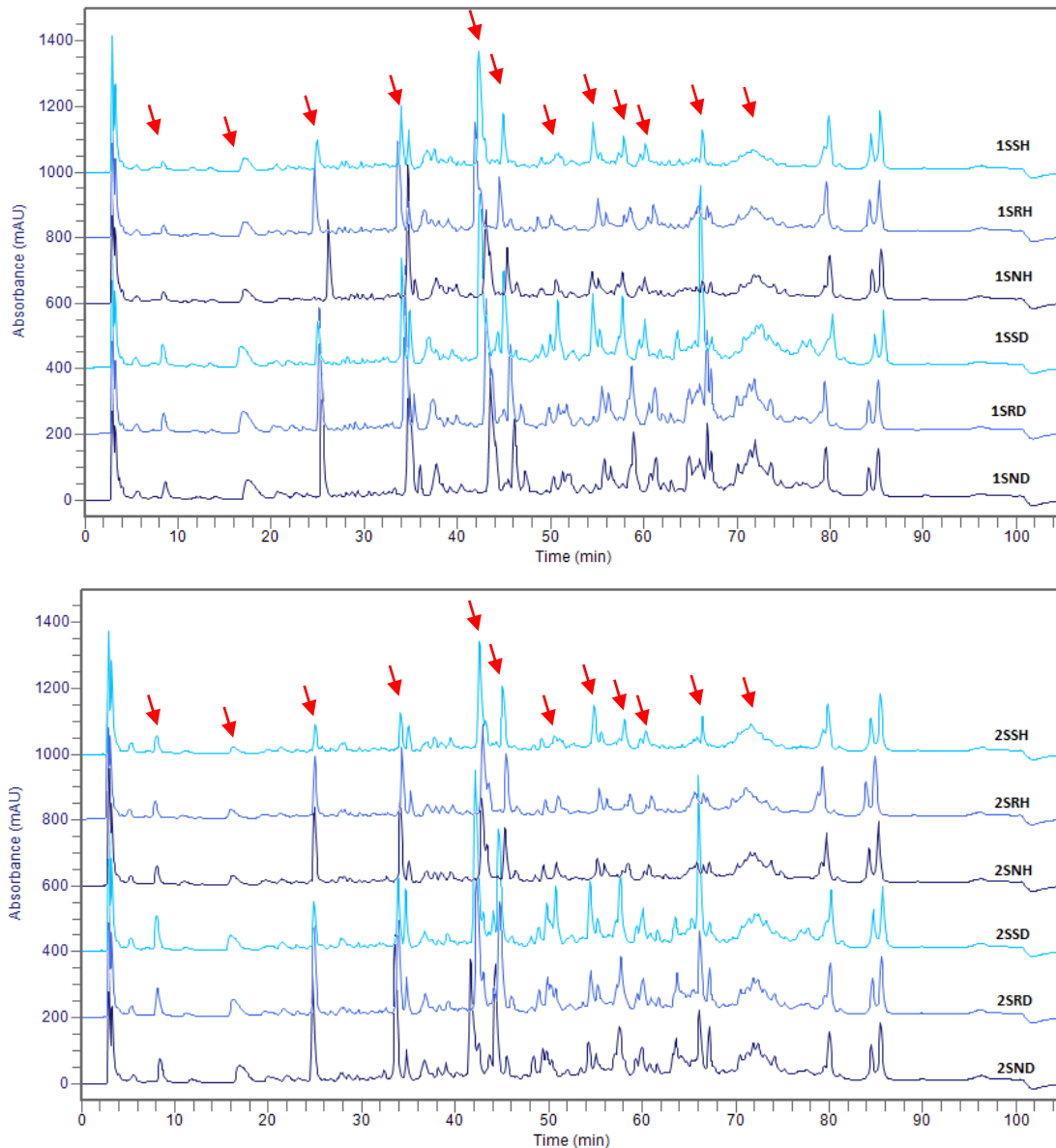


Fig.6. Perfiles peptídicos de los quesos con diferente nivel de salado (SN, SR, SS), coagulante (H; D) y fermento (1;2). Los picos señalados con flechas rojas (\blacktriangledown) fueron los más afectados por los factores estudiados.

4. Conclusiones

En este trabajo se reporta la influencia del tiempo de salado, coagulante y fermento en la composición, recuentos microbianos y perfil de maduración de queso semiduro tipo Pategrás. Los diferentes niveles de los tres factores estudiados generaron cambios en los parámetros analizados; en particular, se observó que algunos cambios producidos por la reducción de sal dependieron principalmente del fermento empleado. De esta manera, para obtener un perfil de maduración deseado y estable en queso Pategrás con menor contenido de sodio se puede seleccionar el fermento más adecuado. Asimismo, se

demonstró que es posible elaborar quesos sin sal y con bajos niveles de microorganismos contaminantes; si bien la sal ejerce control microbiano, otros parámetros también son importantes como la calidad microbiológica de la leche, las contaminaciones y la actividad del fermento.

5. Agradecimientos

El presente estudio fue financiado con subsidios de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Universidad Nacional del Litoral y CONICET. Los autores agradecen a Milkaut SA por proporcionar la leche cruda utilizada en las elaboraciones.

6. Referencias

- Tidona F.; Zago M.; Carminati D.; Giraffa G.(2022). The Reduction of Salt in Different Cheese Categories: Recent Advances and Future Challenges. *Front. Nutr.* 9:859694. doi: 10.3389/fnut.2022.859694
- Møller K.; Rattray F.; Ardö Y.(2013).Application of selected lactic acid bacteria and coagulant for improving the quality of low-salt Cheddar cheese: chemical, microbiological and rheological evaluation. *Int Dairy J.* 33:163–74.
- Peralta G.; Bürgi M.; Martínez L.; Albarracín V.; Hynes E.; Bergamini C. (2023). Effect of high-pressure homogenisation on metabolic potential of *Lactocaseibacillus paracasei* 90: in vitro and in situ studies in fermented milk and semihard cheese. *Int J Dairy Technol*, 76, 583-596
- 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 (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.
- Bradley R.; Arnold E.; Barbano D.; Semerad R.; Smith D.; Vines B. (1993). Chemical and physical methods. In *Standard methods for the examination of dairy product*, 433-53. Marshall R, ed. Washington: American Public Health Association.
- Hynes E.; Bergamini C.; Suárez V.; Zalazar C. (2003). Proteolysis on Reggianito Argentino Cheeses manufactured with natural whey cultures and selected strains of *Lactobacillus helveticus*. *Journal of Dairy Science*, 86, 3831-3840.
- Peralta G.; Bergamini C.; Audero G.; Páez R.; Wolf I.; Perotti, M.; Hynes, E. (2017). Spray-dried adjunct cultures of autochthonous non-starter lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 255, 17-24.