

# QUESOS ELABORADOS CON MEZCLA DE LECHE DE BÚFALA Y OVEJA. EFECTO DEL TIPO DE LECHE EN LA LIPÓLISIS Y FORMACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES



## RESUMEN

El empleo de mezcla de leches de diferentes especies de mamíferos es una práctica arraigada y común en la elaboración de algunos quesos típicos europeos. Los quesos semiduros de leche de búfala se caracterizan por tener un flavor poco acentuado y representan un desafío tecnológico dado las particularidades fisicoquímicas de la leche. La mezcla de leche de búfala con leches de otras especies es una de las estrategias empleadas para mejorar las características organolépticas de los quesos. En el presente trabajo se evaluó la influencia del agregado de leche de oveja a la leche de búfala en la hidrólisis de las grasas (lipólisis) y la formación de compuestos volátiles de los quesos obtenidos. Para ello, se elaboraron quesos con leche de búfala (B) y con mezcla de leches de búfala y oveja (BO) (en una proporción 80:20), empleando el protocolo estándar para quesos semiduros con algunas modificaciones. Al final de la maduración (90 días) ambos tipos de quesos tuvieron una composición fisicoquímica similar: pH, 5,50; humedad, 36 g/100 g; proteínas, 24 g/100g y grasa, 57g/100g (base seca). Como era de esperar, a medida que la maduración avanzó se observó un aumento en el grado de lipólisis, sin embargo, este efecto fue más marcado en el queso BO que en el queso B; los niveles de ácidos grasos libres (AGL) totales se incrementaron 4,5 y 1,3 veces en BO y B, respectivamente. Del aná-

Rebechi, Silvina R.; Wolf, Irma V.; Perotti, María C y Meinardi, Carlos A. Instituto de Lactología Industrial (INLAIN, UNL-CONICET). Santa Fe, Argentina. srebechi@fiq.unl.edu.ar

lisis del perfil se puede inferir que no hubo una actividad enzimática preferencial hacia algún ácido graso en particular. Los perfiles se caracterizaron por niveles elevados para la fracción de los AGL de cadena larga (80 – 90%), mientras que las fracciones de los AGL de cadena corta y media fueron bastante más bajas (7-16% y 2-5%, respectivamente). Con respecto al perfil de compuestos volátiles, se observaron cambios importantes con la maduración. A los 3 días los perfiles de ambos tipos de quesos fueron muy similares y se caracterizaron por una prevalencia de cetonas y alcoholes y en menor medida de ésteres, siendo minoritarios los ácidos y aldehídos. Por el contrario, la maduración afectó de diferente modo los perfiles de volátiles de ambos tipos de quesos. En los quesos B los alcoholes resultaron el grupo mayoritario seguido de las cetonas y los ácidos. La prevalencia de los alcoholes se debió al notorio incremento de etanol, 2-metil 1-propanol, 3-metil 1-butanol y 1-hexanol. En el caso de las cetonas, los niveles de acetoína y diacetilo permanecieron sin cambios, mientras que los principales ácidos evidenciaron importantes incrementos. En los quesos BO los alcoholes constituyeron el grupo predominante junto con los ácidos que tuvieron un marcado incremento, observándose además una reducción de la proporción de las cetonas. Los resultados obtenidos ponen en evidencia la factibilidad de emplear una mezcla de leches de búfala y oveja para obtener productos innovadores y con características organolépticas diferenciadas, que podrían contribuir al desarrollo de las economías regionales.

**Palabras clave:** Leches de búfala – oveja, quesos, lipólisis, compuestos volátiles, maduración.

## INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más completos que forman parte de la dieta humana. Su composición fluctúa marcadamente entre los diferentes animales lecheros, dependiendo de las especies, razas, etapa de lactancia, métodos de ordeño, medioambiente, estación del año, dieta y sistemas de alimentación. Por lo tanto, la composición de la leche es un aspecto imperativo que influye en la calidad del producto lácteo final.

La leche de búfala se caracteriza por su alto valor nutritivo y elevado potencial tecnológico. Presenta características peculiares que permiten diferenciarla de la leche de vaca, tanto por sus propiedades fisicoquímicas como sensoriales. En relación con el alto contenido de proteínas y grasa, es una muy buena materia prima para el procesamiento, especialmente para la elaboración de quesos, alcanzando rendimientos óptimos en la elaboración de los mismos (Sindhu & Arora, 2011; Hühn y col., 1982). La leche de búfala se considera adecuada para la elaboración de quesos frescos como la mozzarella, muy conocida a nivel mundial, sin embargo los quesos duros o semiduros son poco comunes (Martini y col., 2016). Estas variedades de quesos madurados se caracterizan por su suave cuerpo y textura y sabor agradable. Sin embargo, cuando se los elabora con leche de búfala los quesos, si bien presentan una textura comparable a los de leche de vaca, no desarrollan sabor (Rebecchi y col. 2015a).

La maduración del queso es un proceso microbiológico y bioquímico muy complejo que implica la digestión enzimática de los componentes de la cuajada. Comprende principalmente la fermentación de la lactosa y la degradación de la materia grasa (lipólisis) y de las proteínas (proteólisis) (Rafiq y col., 2016). En relación a la materia grasa, los ácidos grasos libres (AGL), productos de la lipólisis, son precursores importantes de las reacciones catabólicas, que producen compuestos que son volátiles y contribuyen al flavor de los quesos (Ivanov y col., 2016; Collins y col., 2003).

Los quesos semiduros de leche de búfala se caracterizan por tener un flavor poco acentuado y representan un desafío tecnológico dado las particularidades fisicoquímicas de la leche. Una de las estrategias empleadas para mejorar las características organolépticas de los quesos es mezclar la leche de búfala con leches de otras especies.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia del agregado de leche de oveja a la leche de búfala en la hidrólisis de las grasas (lipólisis) y la formación de compuestos volátiles de los quesos obtenidos.



## Dataloggers Wi-Fi testo Saveris 2

En cualquier área de conservación, depósito o transporte de alimentos, el control de la temperatura cobra una importancia vital.

- Acceso permanente a todos los datos desde cualquier dispositivo con acceso a internet (PC - Tablet - Smartphone).
- Alarmas por e-mail en valores límite.
- Temperatura - humedad y temperatura - sensores internos y/o externos.

[www.testo.com.ar/saveris2](http://www.testo.com.ar/saveris2)

Yerbal 5266 - 4° piso (C1407EBN) - Buenos Aires - Argentina  
Tel.: (011) 4683-5050 - Fax: (011) 4683-2020  
info@testo.com.ar - www.testo.com.ar

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Elaboración de quesos

Se elaboraron quesos (tres réplicas) con leche de búfala (B) y con mezcla de leches de búfala y oveja (BO) (en una proporción 80:20), empleando el protocolo estándar para quesos semiduros con algunas modificaciones. A la leche pasteurizada (65°C x 20 min.) y enfriada (35°C) se le adicionó el fermento (*S. thermophilus*, CHR-Hansen, Argentina) y el coagulante líquido (quimosina A, Agrolac, Argentina). La cuajada se cortó en cubos (1 cm de lado) y bajo agitación se calentó hasta 45°C. Una vez eliminado el suero, se moldeó y se salaron los quesos. La maduración se realizó durante 90 días a 12 ±1 °C y a los ocho días los quesos se envasaron al vacío (Rebechi y col. 2015b).

### Composición fisicoquímica y análisis microbiológicos de los quesos

Durante la maduración se determinó el pH y la composición global de los quesos (humedad, proteína y materia grasa). Se realizaron recuentos de bacterias lácticas totales, enterococos, lactobacilos, bacterias coliformes, hongos y levaduras (Rebechi y col. 2015b).

### Evaluación de la lipólisis

Se determinó por cromatografía gaseosa (GC – FID) al inicio (tres días) y al final (90 días) de la maduración. Los ácidos grasos libres (AGL) desde C4:0 hasta C18:2 9c, 11t presentes en los quesos se extrajeron con n-hexano en caliente a partir de la muestra previamente acidificada y se cuantificaron como ésteres etílicos por GC. Para ello se utilizó un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer Corp., USA), equipado con una columna capilar HP-Innowax (60m x 0,25 mm DI x 0,25 µm espesor film), inyector split – splitless (250°C, relación de split: 1/50) y detector FID (300°C). El gas carrier fue H<sub>2</sub> con un caudal de 2 ml min<sup>-1</sup>. La cuantificación se realizó empleando el método del estándar interno, para ello se adicionó a la muestra en la etapa de extracción los siguientes ácidos: C5:0, C7:0 y C17:0 como estándares internos (Sigma Aldrich, USA). El programa de temperaturas del horno fue 75°C (1,5 min), 8°C/min hasta 150°C (10 min), 10°C/min hasta 230°C (15 min). Los cromatogramas se procesaron con el software TurboChrom v.4.0 (Perkin Elmer Corp.), y la concentración de los AGL se expresó en mg kg<sup>-1</sup> de queso.

### Análisis de compuestos volátiles

**Aislamiento de los compuestos volátiles.** Se utilizó la microextracción en fase sólida (SPME) como metodología de aislamiento de los compuestos volátiles. Las

muestras de quesos (5 g) contenidas en viales de vidrio se termostataron durante 10 minutos a 40 ±1°C, luego se expuso una fibra DVB/Car/PDMS 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, USA) en el headspace durante 30 min a 40 ±1°C. Luego la fibra fue retraída y llevada al puerto de inyección del GC.

**Análisis por GC/FID y CG/MS.** La desorción de los analitos retenidos en la fibra se realizó térmicamente a 250°C por 5 minutos (modo splitless) en el mismo GC que se empleó para el análisis de los AGL. Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura del detector 290°C; programa de temperatura de la columna, 45°C (4 min), 8°C/min hasta 150°C (3 min) y 10°C/min hasta 250°C (5 min). Como gas carrier se empleó H<sub>2</sub> (2mL/min). Paralelamente se analizaron las muestras por GC-MS empleando un cromatógrafo de gases (Varian CP-3800) acoplado con un espectrómetro de masas (Saturn 2000). Las condiciones operativas del MS fueron: voltaje de ionización, 70 eV; temperatura de la interfase, 260 °C; rango de masa escaneado 40 a 300 m/z; velocidad de escaneo, 250 amu/seg; gas carrier, He con un flujo de 1 mL/min. Los espectros de los picos fueron comparados con la información almacenada en la librería de espectros del software (Wiley y NIST-98). Soluciones patrones (Sigma Aldrich, USA) de los compuestos positivamente identificados por GC/MS se inyectaron en el GC/FID para realizar la identificación de los mismos en los cromatogramas de las muestras analizadas y obtener las áreas de los compuestos, las cuales se expresaron en unidades arbitrarias. Las determinaciones se realizaron por duplicado y los resultados obtenidos para las réplicas de elaboración fueron promediados. Los quesos se analizaron al inicio (3 días) y al final (90 días) de la maduración.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

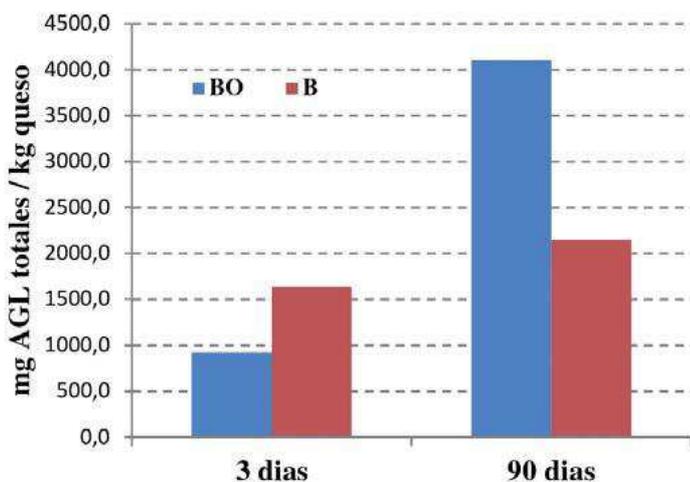
### Composición de los quesos

Al final de la maduración, el pH y la composición global de ambos tipos de quesos tuvieron una evolución semejante: pH, 5,50; humedad, 36 g/100 g; proteínas, 24 g/100 g y grasa, 57 g/100 g (base seca). Los recuentos microbiológicos indicaron que los quesos eran aptos para el consumo y que el recuento de enterococos se incrementó en el queso BO de < 10<sup>2</sup> UFC/g (tres días) a 10<sup>5</sup> UFC/g (90 días) y en el queso B de < 10 UFC/g (tres días) a 10<sup>3</sup> UFC/g (90 días).

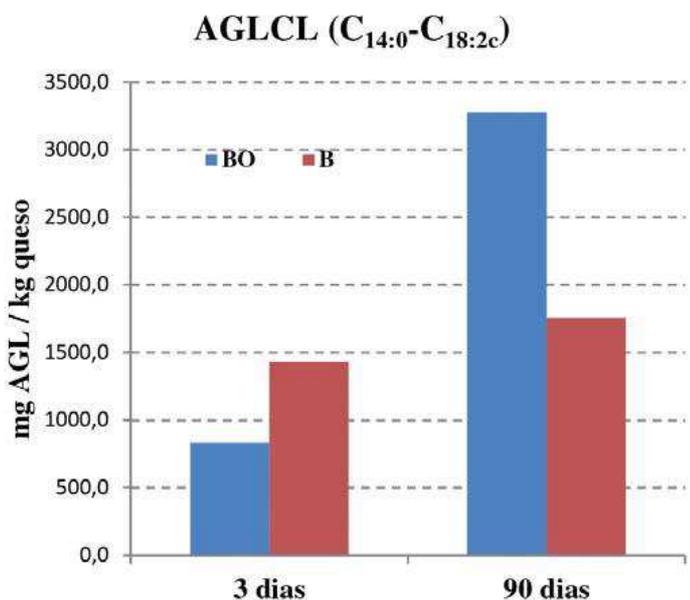
### Lipólisis

En la figura 1 se presenta el grado o nivel de lipólisis (εAGL mg/kg queso) para los quesos B y BO al inicio (tres días) y al final de la maduración (90 días). A medi-

**FIGURA 1** - Nivel de lipólisis para los quesos B y BO al inicio y al final de la maduración



**FIGURA 2** - Proporción de AGLCL en los quesos al inicio y al final de la maduración



da que la maduración avanzó se observó un incremento en los niveles de lipólisis, siendo mayor este incremento para los quesos BO (4,5 veces), que para los quesos B (1,3 veces). En ambos quesos los perfiles de AGL se caracterizaron por altos porcentajes de AGL de cadena larga (AGLCL), que representaron entre el 80 y 90% del contenido total de AGL, porcentajes intermedios de AGL de cadena corta (AGLCC, 7-16%) e inferiores para los AGL de cadena media (AGLCM, 2 – 5%).

Los quesos B y BO a los tres días tuvieron contenidos bajos de AGLCL, 1500 y 800 mg/kg, respectivamente, este comportamiento se revirtió al final de maduración: en BO se encontraron aprox. 3500 mg/kg y en B alrededor de 1700 mg/kg. En los quesos BO se incrementaron cuatro veces los contenidos de AGLCL a medida que la maduración transcurrió mientras que en los quesos B el incremento fue de 1,2 veces (Figura 2).

En los quesos BO se observaron a los tres días los niveles más bajos de AGLCC (50 mg/kg), mientras que a los 90 días los menores contenidos correspondieron a los quesos B (350 mg/kg). Los BO fueron los que experimentaron los cambios más pronunciados durante la maduración: los niveles aumentaron diez veces, en comparación con B cuyos niveles aumentaron alrededor de 2,4 veces (Figura 3).

En cuanto al grupo de los AGLCM, a los tres días se observaron niveles similares (aprox. 25 mg/kg) para ambos tipos de quesos, mientras que a los 90 días los quesos BO tuvieron concentraciones de 200 mg/kg y los quesos B menores niveles (50 mg/kg). Se evidenció un comportamiento

## Productos para la Industria Láctea

Sales fundentes **JOHA®** para la elaboración de quesos fundidos. Estabilizantes para yogur, bebidas lácteas y productos estériles UAT. - **ICL** -  
 Recubrimientos alimenticios para quesos con y sin fungicidas. Productos para tratamientos ambientales - **DOMCA España.** -  
 Fermento propionico liofilizado - **BIENA Canadá** -  
 Sistema rápido por bioluminiscencia para determinación de contaminación en producto final (Leche larga vida y productos UAT) **CELSIS MILAR.**  
 Automatización de finales de línea y pintadoras para quesos en líneas continuas **PREMA.**



**INGENIERO LOPEZ**  
Y ASOCIADOS S.R.L.

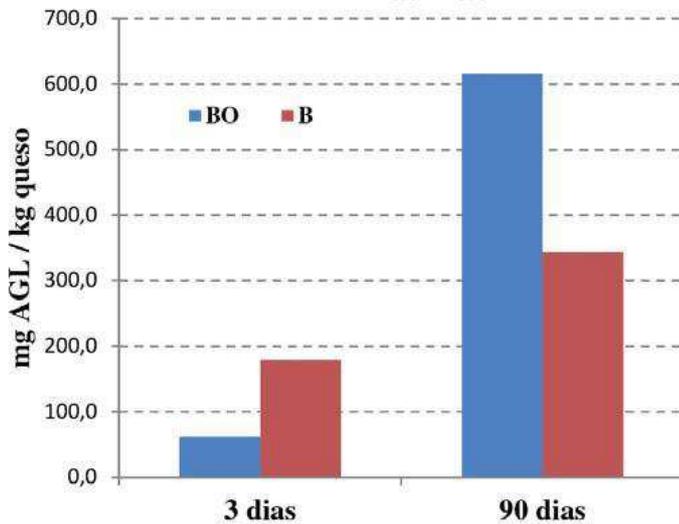
SISTEMA DE GESTION DE CALIDAD  
CERTIFICADO ISO 22000:2005

Lote 178 Parque Industrial Sauce Viejo  
(3017) Santa Fe. Argentina  
Tel / Fax : 0054-342-4995535 / 4995666  
ventas@ilasrl.com.ar - www.ilasrl.com.ar



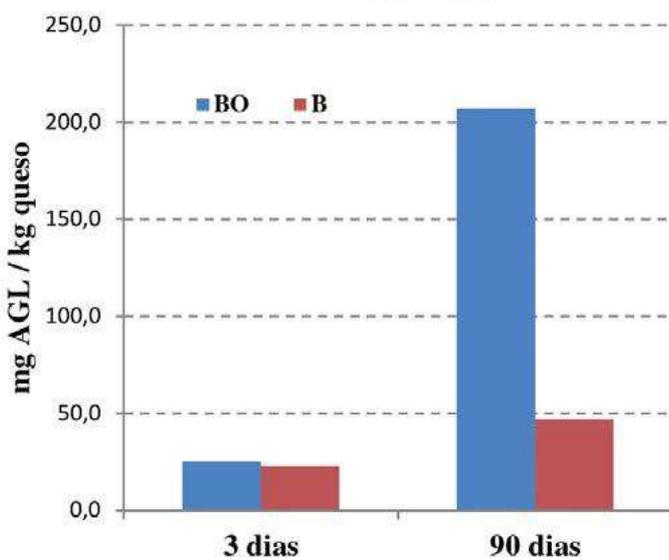
**FIGURA 3** - Proporción de AGLCC en los quesos al inicio y al final de la maduración

**AGLCC (C<sub>4:0</sub>-C<sub>8:0</sub>)**



**FIGURA 4** - Proporción de AGLCM en los quesos al inicio y al final de la maduración

**AGLCM (C<sub>10:0</sub>-C<sub>12:0</sub>)**



similar al observado para los AGLCC, en los quesos BO los niveles de los AGLCM se incrementaron ocho veces con el avance de la maduración en relación a un aumento de dos veces para los quesos B (Figura 4).

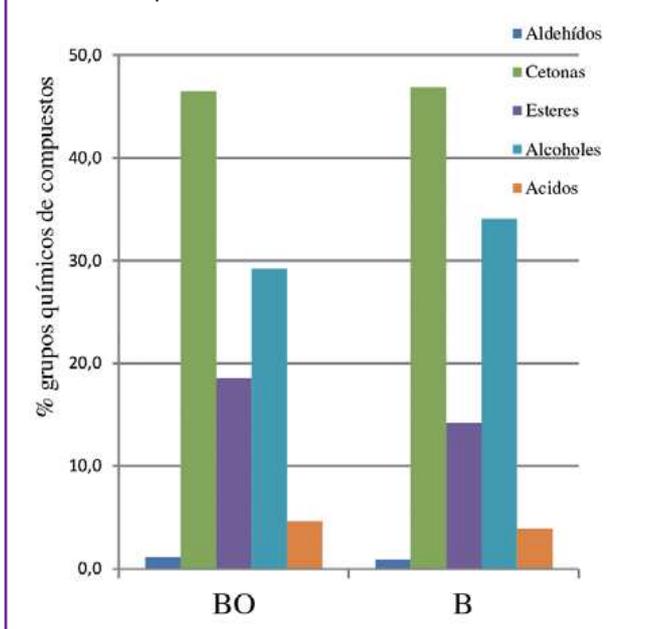
Los quesos elaborados con la leche mezcla fueron los que experimentaron una lipólisis más profunda durante los 90 días de maduración, esto se manifestó por que los aumentos de las tres fracciones fueron más grandes para estos quesos en comparación a los elaborados solo con leche de búfala. Este incremento se relaciona con el aumento de recuentos de enterococos en ambos quesos durante la maduración, siendo más elevado el recuento en el queso elaborado con la leche mezcla.

Suarez y col. 2013 encontraron en quesos semiduros elaborados con leche de oveja pasteurizada y fermento natural un incremento en el recuento de enterococos de 2 órdenes log, atribuyendo la presencia de estas bacterias a la microflora NSLAB de la leche de elaboración. Katz, y col., 2004, evaluaron la contribución de dos cepas de *E. faecium* a la lipólisis de quesos de leche de oveja y encontraron que ambas cepas incrementaron a los 30 días el nivel de lipólisis y que el incremento se relaciona con la actividad estearasa de la cepa.

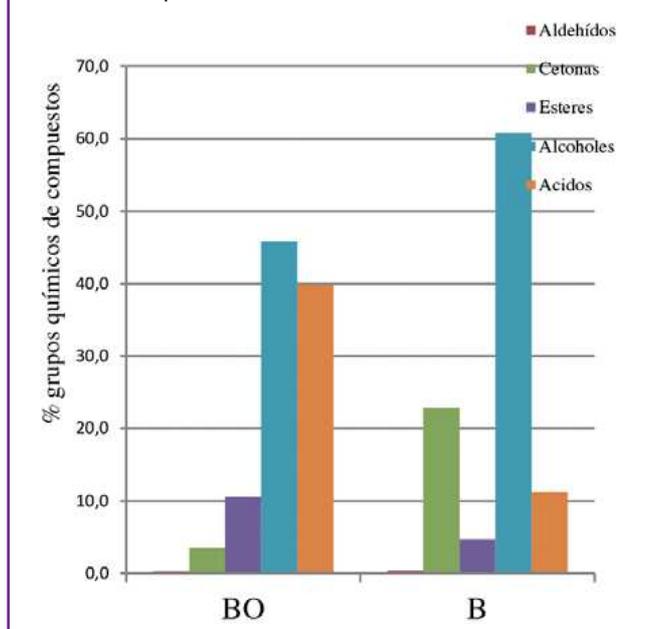
### Compuestos volátiles

Se identificaron un total de 36 compuestos volátiles en ambos tipos de quesos. A los tres días tanto los quesos B como los BO presentaron un perfil global de compuestos volátiles similar. Ambos se caracterizaron por una prevalencia de compuestos del grupo de las cetonas y de los alcoholes, y en menor medida los ésteres, siendo minoritarios los ácidos y aldehídos (Figura 5). Dentro del grupo de las cetonas, la acetoína fue la mayoritaria, mientras que en el grupo de los alcoholes y ésteres se destacó la presencia de etanol y butanoato de etilo. La maduración introdujo profundos cambios y afectó de diferente modo la incidencia de los distintos grupos de compuestos en los perfiles de ambos tipos de quesos (Figura 6). A los 90 días, los alcoholes resultaron el grupo mayoritario de los quesos B, seguidos de las cetonas y los ácidos. La prevalencia de los alcoholes se debió al notorio incremento observado en los niveles de etanol, 2-metil 1-propanol, 3-metil 1-butanol y 1-hexanol. En el caso de las cetonas, los niveles de acetoína y diacetilo permanecieron sin cambios, mientras que los ácidos acético, butírico y hexanoico evidenciaron importantes incrementos. Por su parte, el análisis del perfil global de compuestos volátiles de los quesos BO mostró a los alcoholes y a los ácidos como los grupos mayoritarios, observándose una notoria disminución de la incidencia de las cetonas. Estos cambios fueron consecuencia de los importantes incrementos detectados en los niveles de etanol, alcoholes ramificados, ácido acético, ácido butanoico y ácido hexanoico y de las disminuciones significativas en los niveles de acetoína y diacetilo.

**FIGURA 5** - Perfiles de compuestos volátiles de los quesos al inicio de la maduración



**FIGURA 6** - Perfiles de compuestos volátiles de los quesos al final de la maduración



### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos ponen en evidencia la factibilidad de emplear una mezcla de leches de búfala y oveja para obtener productos innovadores como los quesos semiduros de leche de búfala y que posean características organolépticas diferenciadas. De esta manera, podemos resaltar la importancia de los enterococos, microorganismos con mayor capacidad proteolítica y lipolítica, aportados como NSLAB en mayor cantidad por la leche de oveja, su rol en el desarrollo del flavor de los quesos.

### BIBLIOGRAFÍA

Collins, Y.; McSweeney, P. and Wilkinson, M. (2003) Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal* 13 841 – 866.

Hühn, S.; Freitas Guimarães, M.C.; Barbosa do Nascimento, C.N.; Danin de Moura Carvalho, L.O.; Dias Moreira, E.; Brito Lourenço Junior, J. (1982). Estudio comparativo da composição química do leite de zebuinos e bubalinos. *Boletim de pesquisa N°36*. Embrapa, Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, Belem PA.

Ivanov, G.; Balabanova, T.; Ivanova, M. and Vlasseva, R. (2016) Comparative study of Bulgarian White Brined cheese from cow and buffalo milk. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 22 (n° 4) 643 – 646.

Katz, M.; Medina, R.; Giraud, C.; Rodriguez, M.; Gatti, P. y González, S. (2004) Lipólisis de quesos de oveja del noroeste argentino por *Enterococcus faecium*. Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI).

Martini, M.; Altomonte, I.; Da Silva Santana, A. y Salari, F. (2016) Nutritional composition of four commercial cheeses made with buffalo milk. *Journal of Food and Nutrition Research* 55 (6) 256 - 262

Rafiq, S.; Huma, N.; Pasha, I. and Shahid, M. (2016) Compositional Profiling and Proteolytic Activities in Cow and Buffalo Milk Cheddar Cheese Pakistan *J. Zool.*, vol. 48(4), pp. 1141-1146.

Rebecchi, S.; Maina, J.; Palma, S. y Meinardi, C. (2015a) Acciones tendientes a mejorar la calidad organoléptica de quesos semiduros elaborados a partir de leche de búfala. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. CLICAP. San Rafael, Mendoza, Argentina.

Rebecchi, S.; Suárez, V.; Costa, S.; Candiotti, M. y Meinardi, C. (2015b) Características fisicoquímicas y microbiológicas de quesos semiduros elaborados con mezcla de leche de búfala y oveja. CYTAL - AATA Buenos Aires, Argentina

Sindhu, J. and Arora, S. (2011) Buffalo Milk. En *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Fuquay John W., Fox, Patrick F., McSweeney Paul L.H. Ed. Academic Press, San Diego, United States. ISBN: 978-0-12-374407-4, Electronic ISBN: 978-0-12-374407-4, pp. 503-511.

Suárez, V.; Binetti, A; Briggiler Marcó, M; Meinardi, C (2015) Incidencia de la composición microbiológica de quesos elaborados con leche mezcla oveja-búfala en el flavor del producto final. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas CLICAP. San Rafael, Mendoza, Argentina.

Suárez, V.; Binetti, A; Briggiler Marcó, M; Sabbag, N.; Meinardi, C (2013) Quesos de leche de oveja elaborados con fermentos naturales: características microbiológicas y sensoriales. Congreso Argentino de Microbiología (CAM).