

TRANSFORMACIONES PRODUCIDAS POR BACTERIAS DURANTE LA MANUFACTURA DEL QUESO PALMITA

C.A. Montoya A. y A. Ferrer O.
División de Postgrado
Facultad de Ingeniería
Universidad del Zulia
Maracaibo, Venezuela

RESUMEN

Para determinar, las variaciones que la pasteurización y/o inoculación de la leche utilizada en la manufactura del queso palmita, producen sobre las características del queso, se elaboraron 48 quesos y se determinaron los siguientes parámetros: rendimiento en peso de los quesos, porcentaje de proteínas, porcentaje de grasa, porcentaje de lactosa, lipólisis y proteólisis. Además, se realizó el estudio comparativo del efecto que sobre las variaciones ya mencionadas ocasiona la utilización como fermento, bien sea individualmente o mezcladas, de dos cepas de *Streptococcus faecalis* y de dos especies de *Lactobacillus*, acompañadas siempre de una cepa de *Enterobacter*. Las cepas fueron aisladas del queso palmita elaborado con leche cruda en la región zuliana y el criterio de selección fue la producción de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular característicos del queso palmita. Los resultados mostraron que el rendimiento y el porcentaje de proteínas, grasa y lactosa aumentaron con la pasteurización, mientras que la actividad lipolítica y proteolítica disminuyeron. La comparación entre los fermentos evidenció que algunos influyen significativamente sobre el peso de los quesos, porcentaje de proteínas, porcentaje de grasa, porcentaje de lactosa, lipólisis y proteólisis.

ABSTRACT

In order to determine the variations which pasteurization and/or inoculation of the milk used for Palmita Cheese manufacture, produced on the characteristics of the cheese, 48 cheese were elaborated and the following parameters were determined: weigh yield of the cheese, protein, fat and lactose contents, and lipolysis and proteolysis. In addition, a comparative study over the effect that use as starters, single or mixed, of two strains of *Streptococcus faecalis* and two species of *Lactobacillus*, always together with a strain of *Enterobacter*, causes on the foregoing variations, was carried out. The strains were isolated from Palmita Cheese made from raw milk at Zulia region and the production of low molecular weight organic acids, typical of Palmita Cheese was used as the criterion for the

selection of the strains. Results showed that yield and the protein, lactose and fat contents increased with pasteurization, whereas lipolytic and proteolytic activities decreased. The comparison among starters showed that some of them influence significant the weight yield of the chesses, protein, lactose and fat contents, and lipolysis and proteolysis.

INTRODUCCION

El queso tipo "palmita" es un producto netamente zuliano de buenas cualidades alimenticias y organolépticas, pero debido a su elaboración a partir de leche cruda y a sus características de queso fresco, posee niveles por encima de los valores especificados en las normativas, de agentes potencialmente patógenos como *Escherichia coli* y *S. aureus* coagulasa positiva (Ferrer, 1987).

Para resolver este problema, Cabrera y col. (1987) han recurrido a la pasteurización de la leche con la cual se asegura que se eliminan las bacterias patógenas, sin embargo este proceso también elimina los microorganismos tipificadores del queso en cuestión, de modo que seleccionaron a partir del queso palmita artesanal un conjunto de bacterias causales de las características propias de este queso y después de inocularlas en leche pasteurizada se obtuvieron quesos similares al Palmita pero con defectos en el sabor, es Granados (1987) quien con su investigación permitió reducir al conjunto de bacterias al *E. cloacae*, 2 cepas de *S. faecalis* var *faecalis* y 2 cepas de *L. casei*.

El objetivo de este trabajo es utilizar las bacterias seleccionadas para producir queso palmita con leche pasteurizada e investigar el efecto que la pasteurización y el uso de dichas bacterias ejercen sobre el rendimiento, porcentaje de proteínas, porcentaje de grasa, porcentaje de lactosa, proteólisis y lipólisis, investigación que es fundamental para la obtención de este tipo de queso a nivel industrial.

MATERIALES Y METODOS

1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Se diseñó un experimento en bloque completamente aleatorizado con submuestras desiguales de los tratamientos que permitió investigar los efectos que la pasteurización y/o inoculación de leche ejerce sobre las variables dependientes: contenido protéico, contenido graso, lactosa, proteólisis y lipólisis de los quesos tipo palmita elaborados con dicha leche.

Los tratamientos a probar en este experimento quedaron conformados por:

a. Tratamientos sobre la leche

LC = Leche sin pasteurizar
 LCI= Leche sin pasteurizar e inoculada
 LP= Leche pasteurizada
 LPI= Leche pasteurizada e inoculada

b. Tipos de fermentos lácticos empleados como inóculos

L₁ = *Lactobacillus* sp. 1 + *Enterobacter* sp.
 L₂ = *Lactobacillus* sp. 2 + *Enterobacter* sp.
 S₁ = *Streptococcus faecalis* sp.1+*Enterobacter* sp.
 S₂ = *Streptococcus faecalis* sp.2+*Enterobacter* sp.
 L₁S₁ = *Lactobacillus* sp. 1+*Streptococcus* sp. 1 + *Enterobacter* sp.
 L₁S₂ = *Lactobacillus* sp. 1+*Streptococcus* sp. 2 + *Enterobacter* sp.
 L₂S₁ = *Lactobacillus* sp. 2 + *Streptococcus* sp. 1 + *Enterobacter* sp.
 L₂S₂ = *Lactobacillus* sp. 2 + *Streptococcus* sp. 2 + *Enterobacter* sp.

Los tratamientos se distribuyeron en 8 sesiones semanales de elaboración de quesos, utilizando cada uno de los fermentos tal y como se ordenaron en el aparte (b) correspondientes a la tipificación de los tratamientos, de manera que en la primera semana se utilizó el primer fermento (L₁) y así sucesivamente hasta la octava semana, donde se utilizó el fermento ocho (L₂ + S₂), elaborándose semanalmente 6 quesos a saber:

- Un queso de leche sin pasteurizar (QLC)
- Dos quesos de leche inoculada (QLCI)
- Un queso de leche pasteurizada (QLP)
- Dos quesos de leche pasteurizada inoculada (QLPI)

La fabricación de los quesos tanto de leche cruda como pasteurizada fue efectuada siguiendo la metodología reportada por Cabrera y col., (1987) los cuales después de 48 horas de incubación se pesaron y se les realizaron los análisis químicos respectivos a saber: a) Nitrógeno total utilizando el método macro Kjeldahl (A.O.A.C. 1980), b) Grasa por el método de Mojonnier (Mojonnier, 1970), c) lactosa por el método rápido de Teles (Teles, 1976) utilizando en este método 40 gr. de queso homoge-

neizado en 60 ml. de agua a 40°C tomándose una alícuota de 2 ml. para seguir con el procedimiento descrito, d) la proteólisis se llevó a cabo mediante la determinación de hidrólisis de proteínas reportado por Church y col., (1983) aplicando la metodología a 5 ml del homogeneizado preparado de igual forma que para la determinación de lactosa. Finalmente la lipólisis se determinó por modificación del método de Kudzal-Savoie (1971), donde se midió el contenido de equivalentes de ácidos grasos liberados por la acción lipolítica, donde 2gr de queso se homogeneizaron en 10ml de agua mezclándolo con Etanol, hidróxido de sodio y hexano para los ácidos grasos.

Después de obtener los resultados se realizaron los análisis de varianza respectivos y las medias se calcularon por el método de DUNCAN.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. EFECTO DE LA PASTEURIZACION E INOCULACION

a) Efecto sobre el peso de los quesos.

En la Tabla 1 se observa que el peso de los quesos se incrementó significativamente ($P < 0.01$).

Por la pasteurización de la leche el aumento de peso de los quesos pasteurizados se situó en 16.86% con respecto a los no pasteurizados, situación que puede ser producto de la precipitación de las proteínas termolábiles de la leche (Melachouris, 1977).

TABLA 1

PRUEBAS DE MEDIAS
 ENTRE LOS PESOS DE LOS QUESOS POR TRATAMIENTO

	QLPI	QLP	QLCI	QLC
PESO QUESOS	808.06	775.45	682.04	672.98

b) Efecto sobre el porcentaje de proteínas.

En la Tabla 2 se observa que el porcentaje de proteínas aumenta por la acción combinada de la pasteurización e inoculación de la leche y por otra parte la elevada correlación $r = 0.94$ (Tabla 7) entre incremento en el peso de los quesos y el incremento del porcentaje de proteínas, indica la contribución de "nuevas" proteínas por efecto de los tratamientos al incremento de peso, además las proteínas atrapan agua por lo tanto se espera que aumentos del porcentaje de proteínas estén acompañados por aumentos de humedad, factores que influyen en el peso.

TABLA 2

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE PROTEINAS POR TRATAMIENTO

	QLPI	QLP	QLC	QLCI
% PROTEINAS	23.96	21.71	20.15	20.02

c) Efecto sobre el porcentaje de grasas.

Para este parámetro la variación se sitúa principalmente en los quesos de leche cruda inoculada (QLCI), los cuales muestran el mínimo promedio graso y los quesos de leche pasteurizada inoculada que muestra el mayor promedio (Tabla 3). Sin embargo, al probar la hipótesis $M_1(QLPI, QLP) = M_2(QLC, QLCI)$ resultó que existen diferencias significativas por lo tanto es posible señalar que los quesos de leche pasteurizada contienen mayor contenido graso que los quesos de leche cruda estén ambos inoculados o no.

La alta correlación (Tabla 7) que se encontró entre porcentaje graso y porcentaje de proteína abre la posibilidad a la fijación de la grasa por parte de la fracción lipofílica de las proteínas del queso cuando precipitan por la acción térmica (Green, 1982, Bolcato, 1970).

TABLA 3

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE GRASA POR TRATAMIENTO

	QLPI	QLC	QLP	QLCI
% GRASA	53.29	51.79	50.79	48.29

d) Efecto sobre el porcentaje de lactosa.

En la Tabla 4 se observa que los quesos de leche pasteurizada presentan mayor contenido de lactosa que los quesos de leche cruda, lo que puede ser producto del arrastre y fijación de lactosa en la cuajada, por parte de los residuos hidrofílicos de las proteínas adicionales por la acción térmica y la formación de complejos físicos con las grasas (Li, Chan, 1982). La estrecha correlación $r = 0,69$ (Tabla 7) encontrada entre lactosa y proteína puede ser un aval más para fortalecer la suposición del arrastre de lactosa por parte de las proteínas, lo que puede servir para explicar la correlación (Tabla 7) que existe entre el porcentaje de lactosa y rendimiento el cual aumenta con los incrementos del primero.

TABLA 4

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE LACTOSA POR TRATAMIENTO

	QLPI	QLP	QLCI	QLC
% Lactosa	6.34	5.95	5.27	4.64

f) Efecto sobre la Extensión Lipolítica.

La prueba de medias (Tabla 5) señala claramente que la acción de la pasteurización sobre la leche que se usará para elaborar los quesos, disminuye significativamente la acción lipolítica y que la sola presencia del inóculo en la leche después de pasteurizada provoca incrementos en este parámetro; por otra parte la extensión en la lipólisis implica también disminución en los rendimientos lo que se evidencia a correlacionar peso de los quesos con lipólisis (Tabla 7).

TABLA 5

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE LA EXTENSION LIPOLITICA POR TRATAMIENTO

	QLC	QLCI	QLPI	QLP
GRADO LIPOLISIS (Eqx10 ² /25gr.queso)	3.76	3.74	3.68	3.29

g) Efecto sobre la extensión Proteolítica.

Similarmente a los resultados del efecto de la lipólisis, la acción proteolítica disminuye por efecto de la pasteurización, es decir, la microflora más proteolítica es la inicialmente presente en la leche (Tabla 6). Igualmente se demuestra al correlacionar proteínas con rendimiento: (Tabla 7) que por muy pequeña que sea la proteólisis en los quesos frescos (Escoda y Bracho, 1979), ésta influye sobre el rendimiento.

TABLA 6

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PROTEOLISIS POR TRATAMIENTO

	QLC	QLCI	QLPI	QLP
Proteólisis Abs a 340mm	0.203	0.184	0.113	0.089

TABLA 7
COEFICIENTES DE CORRELACION (r)

TABLA 7. COEFICIENTES DE CORRELACION (r)

VS	PESO	% PROTEINAS	GRASA	PROTEOLISIS	LIPOLISIS
Peso	-	0.94	-	-0.93	- 0.54
Grasa	0.25	0.74	-	-	-
Lactosa	0.76	0.69	-	-	-
Lipólisis	-	-	0.005	0.81	-
Proteína	-	-	-	-0.75	-

2. EFECTO DE LOS FERMENTOS UTILIZADOS EN QUESOS ELABORADOS CON LECHE PASTEURIZADA

Para separar el posible efecto de la diferente calidad de la leche en los tratamientos, del efecto del fermento, se calculó el porcentaje variacional (% VAR) con los valores de cada una de las variables entre los QLPI y los QLP mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ VAR} = \left(\frac{\text{QLPI} - \text{QLP}}{\text{QLP}} \right) \times 100$$

Los valores presentados son de promedio de duplicados.

a) Efecto sobre el peso de los quesos.

En la Tabla 8 se detecta que los quesos inoculados con S₂ muestran la máxima ganancia de peso, seguido de los inoculados con L₂S₂ y S₁, los cuales no se diferencian significativamente entre sí en lo que respecta al resto de los tratamientos, se considera que no alteran el peso, puesto que no varían estadísticamente entre sí y por otra parte los valores están muy cercanos al cero, de manera que se puede sostener que los quesos inoculados con S₂, L₂S₂ y S₁ exhiben ganancia con respecto a los no inoculados.

TABLA 8
PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJES DE VARIACION DE PESO POR FERMENTO

% DE VARIACION FERMENTO	S ₂	L ₂ S ₂	S ₁	L ₁	L ₂ S ₁	L ₁ S ₁	L ₁ S ₂	L ₂
	16.92	5.70	4.34	3.20	2.69	2.24	-1.61	-1.89

b) Efecto sobre porcentaje de Proteínas

La prueba de medias (Tabla 9) indica que los quesos inoculados con S₁ contienen el mayor porcentaje y que el conjunto de fermentos formados por L₁S₁ y L₂S₂ contienen el menor porcentaje, destacándose que los dos últimos fermentos exhiben variaciones negativas. Las bacterias que constituyen las combinaciones mencionadas, a saber L₂, S₂, S₁, cuando actúan solas incrementan el porcentaje de proteínas en los quesos y mezclados (L₂ con S₁ ó S₂) lo contraen.

TABLA 9
PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE VARIACION DE PROTEINAS POR FERMENTO

% DE VARIACION FERMENTO	S ₁	L ₁ S ₂	L ₂	S ₂	L ₂ S ₁	L ₁	L ₁ S ₁	L ₂ S ₂
	28.40	17.95	15.56	14.53	9.58	2.65	-0.67	-0.98

c) Efecto sobre el Porcentaje de Grasa

La prueba de medias (Tabla 10) permitió situar la variación, diferenciando varios grupos de fermentos con distintas actividades en lo que a grasa se refiere. De allí se desprende que los QLPI, inoculados con S₁ y S₂, exhiben mayor porcentaje de variación en el contenido graso que los fabricados con el resto de los inóculos; también es de advertir que si bien no existe una clara diferenciación entre Estreptococos y lactobacilos, si existen entre fermentos simples y mezclados, diferencias que son producto de interacciones metabólicas y competitivas. (Driessen, 1982, Keogh, 1978), y de la posible mayor utilización de los lípidos como recurso energético y/o sustrato por parte de la mezcla.

TABLA 10
PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE VARIACION DE GRASA POR FERMENTO

% DE VARIACION FERMENTO	S ₁	L ₁	L ₂	S ₂	L ₁ S ₂	L ₁ S ₁	L ₂ S ₂	L ₂ S ₁
	22.91	17.74	9.47	7.22	3.99	2.52	-6.53	-10.59

d. Efecto sobre porcentaje de Lactosa

La prueba de medias (Tabla 10) permite distinguir la variación entre fermentos, resultando que los QLPI inoculados con lactobacilos, especialmente con L₂ contienen mayor concentración de lactosa que los quesos elaborados con estreptococos. Sin embargo, no existen diferencias significativas entre L₁ y S₂, como tampoco existen entre las mezclas y los fermentos simples. Los fermentos cuyos QLPI muestran menor contenido de lactosa son L₂ y S₁; es bastante probable que la fuerte disminución del porcentaje en los quesos que contienen estos fermentos, se deba a una acentuada conversión a ácido láctico, ya que por ser L₂S₁ y S₁ altamente proteolíticos y lipolíticos no se espera una extensa reacción o formación de complejos con las proteínas y/o grasas, quedando la transformación ácido-láctica con alta probabilidad de ser el agente causal de la fuerte disminución de lactosa; se espera por lo tanto que el pH de estos quesos se encuentre por debajo del promedio y la acidez por encima.

TABLA 11

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE VARIACION
DE LACTOSA POR FERMENTOS

I DE VARIACION FERMENTO	33.55	28.15	7.54	6.82	6.61	2.36	-6.93	-28.96
	L ₂	L ₂ S ₂	L ₁	S ₂	L ₁ S ₂	L ₁ S ₁	S ₁	L ₂ S ₁

guir al S₁ como fermento más proteolítico en concordancia con Bonassi (1985), quien reporta a los enterococos lácticos como más proteolíticos en queso Minas; siguiendo a este fermento se localiza a la mezcla de L₂S₂ la cual muestra alta actividad proteolítica.

El resto de los fermentos no difieren entre sí y sus valores se encuentran alrededor de cero (L₁S₂ = 0,55) razón por lo cual se consideran muy poco proteolíticos, atribuible al hecho de ser quesos frescos (Escoda y Bracho, 1979); es decir, que en el poco tiempo de incubación (48 horas) solamente los fermentos S₁ y L₂S₂ desarrollan actividad proteolítica capaz de diferenciarlos del resto de los fermentos cuando están mezclados tanto positivo (L₂S₂), como negativo (L₁S₁).

TABLA 13

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJES DE VARIACION DE LA EXTENSION
PROTEOLITICA POR FERMENTOS

I DE VARIACION FERMENTO	113	110.96	45.41	38.64	38.55	0.55	-11.25	-22.65
	S ₁	L ₂ S ₂	L ₂ S ₁	L ₂	L ₁	L ₁ S ₂	L ₁ S ₁	S ₂

V. CONCLUSIONES

e) Efecto sobre extensión Lipolítica.

En la Tabla 12 la prueba de medias permite señalar que los estreptococos son más lipolíticos que los lactobacilos, principalmente S₁. Igualmente se destaca que el fermento mixto de S₁ con cualquiera de los lactobacilos estudiados exhibe actividad lipolítica intermedia.

TABLA 12

PRUEBA DE MEDIAS
ENTRE PORCENTAJE DE VARIACION DE LA
EXTENSION LIPOLITICA POR FERMENTO

I VARIACION FERMENTO	32.36	17.02	16.63	16.11	10.30	5.30	2.34	-0.62
	S ₁	S ₂	L ₂ S ₁	L ₁ S ₁	L ₁ S ₂	L ₁	L ₂ S ₂	L ₂

La pasteurización de la leche incrementa el peso de los quesos "tipo palmita" (16.83%), el contenido protéico (13.69%), grasa (3.99%), y de lactosa (17.13%), en comparación con los manufacturados con leche cruda.

Las variaciones de peso en los quesos están correlacionados linealmente con las variaciones en el contenido de proteínas (r = 0.94), y con el contenido de lactosa (r = 0.76) y ligeramente con el contenido de grasa (r = 0.20).

Los incrementos de proteínas en los quesos manufacturados con leche pasteurizada están correlacionados linealmente con incrementos en el contenido de grasa (r = 0.74) y lactosa (r = 0.69).

El tipo de fermento empleado en la manufactura de queso "palmita" a partir de leche pasteurizada influye sobre la ganancia de peso, porcentaje de proteínas, porcentaje de grasa, porcentaje de lactosa, lipólisis y proteólisis.

f. Efecto sobre extensión Proteolítica.

La prueba de medias (Tabla 13) permite distin-

Los quesos donde se emplean estreptococos, principalmente S₂, presentan mayor peso que aquellos donde se utilizan lactobacilos o mezclas de fermentos.

Los quesos inoculados con estreptococos, especialmente S₁, poseen mayor contenido de proteínas que los inoculados con lactobacilos, y los quesos inoculados con fermentos simples más que los inoculados con mezclas.

Cuando se usan S₁ o L₂ como fermentos en la manufactura de queso tipo palmita a partir de leche pasteurizada, los quesos exhiben mayor contenido graso.

Los quesos inoculados con lactobacilos contienen mayor contenido de lactosa que los inoculados con estreptococos.

Los estreptococos (S₁ y S₂) son más lipolíticos que los lactobacilos.

La cepa de estreptococos S₁ es la más proteolítica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS: "Official methods of analysis". AOAC. Washington D.C. 1980.
- 2) BOLCATO, P.; SPETTOLI, I.; CAGLIARI, A.: "Composition of the bound lipid in caseins and in Ripening cheese". J. Dairy Research 37, 431. 1970.
- 3) BONASSI, I.; GOLDON, J.S.: "Influencia das bacterias laticas mesófilas: Streptococcus cremoris, streptococcus diacetilactis y leuconostoc citrovorumnas características do queijo tipo minas". 34, (4), 1982, 379-385.
- 4) CABRERA, L.; FERRER, A.: "Microflora Determinante de quesos con características organolépticas similares a las del queso palmita". Revista FEC de LUZ, Vol. 5, 1987.
- 5) CHURCH, F.; SWAISGOOD, M.; CATIGNANI, G.: "Spectroftometric assay using o-phthaldialdemyde for determination of proteolysis in milk". Dairy Sci 66(6), 1983, 1219-1227.
- 6) DRIESEN, F.M.; KINGNO, F.; STADHOUDERS, J.: "Evidence that lactobacillus bulgaricus in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by streptococcus thermophilus". Neth milk dairy J. 36, 1982, 135-144.
- 7) ESCODA, A.; BRACHO, G.: "Proteolisis y liposis en el queso blanco". Revista F.A.C. Agronomía: LUZ 5(3), 1979, 559-554.
- 8) FERRER, O.A., URDANETA, G.D. y RINCON, A.Z.: "Evaluación físico-química y microbiológica del queso palmita venezolano". Revista Fac.Exp.Ciencias de LUZ, Vol. 4, 1987.
- 9) GRANADOS, A.: "Determinación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular". (Tesis de Grado) Fac. Exp. de Ciencias L.U.Z., 1986.
- 10) GREEN, M. y MANNING, D.: "Development of texture and flavor in cheese and other fermented products". J. Dairy Research; 49, 1982, 737-748.
- 11) INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMST): "Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration". 1978.
- 12) KEOCH, B.P.: "Microorganisms in dairy products. friends and foes the australian journal of dairy technology". 33, 1978, 41-45.
- 13) KUDZAL-SAVOIE, S.; KUDZAL, W. y LANGLOIS, D.: "Dosage des acides gras libres". Le lait 51, 1971, 334-508.
- 14) LI-CHAN: "Properties and molecular interactions of whey proteins concentrates upon storages". J. Dairy Sci, 1982; 65, 1847.
- 15) MELACHORIS, N.P.; TUCKEY, S.L.: "Proteins denaturation in milk heated to ultrahigh temperature for cheese-making". J. Dairy Sci. 49(5), 314.

Recibido el 26 de Octubre de 1988