

Perfil de ácidos grasos libres y características sensoriales de quesos reggianito elaborados con diferentes fermentos

Por M.C. Perotti^{1*}, S. Bernal, V. Wolf y C.A. Zalazar¹

Instituto de Lactología Industrial (INLAIN)
Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral/CONICET
1° de Mayo 3250, 3000M Santa Fe, Argentina
(* autor para la correspondencia: cperotti@fiq.unl.edu.ar)

RESUMEN

Perfil de ácidos grasos libres y características sensoriales de quesos Reggianito elaborados con diferentes fermentos.

El queso Reggianito es la variedad más importante dentro de los quesos duros fabricados en Argentina. Durante la maduración se producen innumerables reacciones bioquímicas sobre sus constituyentes, que conducen a definir las características sensoriales típicas de esta variedad de queso. Una de estas transformaciones involucra a la materia grasa originándose en una primera etapa ácidos grasos libres (AGL).

En el presente trabajo se evaluó el perfil de AGL desde C_{6:0} hasta C_{18:2} a diferentes tiempos de maduración, en quesos Reggianito elaborados con suero fermento natural y con cepas seleccionadas de *Lactobacillus helveticus*. La información obtenida de los perfiles cromatográficos fue analizada por Análisis por Componentes Principales (ACP) y Análisis Discriminante (AD). Los niveles de los AGL aumentaron significativamente ($p < 0,05$) durante la maduración, sin embargo no se encontraron diferencias entre los quesos producidos con distintos fermentos. El análisis sensorial indicó que todos los quesos fueron similares y presentaron una calidad sensorial satisfactoria.

Los resultados de este estudio además de contribuir al mejor conocimiento de la maduración del queso Reggianito, considerando la escasa información existente sobre la degradación de la materia grasa (lipólisis), realizan un significativo aporte para tratar de reemplazar los fermentos naturales por bacterias lácticas seleccionadas con todas las ventajas que ello significa para la estandarización y mejora de la calidad del producto.

PALABRAS-CLAVE: Características sensoriales – Fermentos seleccionados – Lipólisis – Queso Reggianito.

SUMMARY

Free fatty acid profile and sensory characteristics of Reggianito cheese produced with different starters.

Reggianito is the most important variety among the Argentinean hard cheeses. During its ripening period several

biochemical reactions of proteins and fat are responsible for its final sensory characteristics. The fat transformations, in a first step, produce free fatty acids (FFA).

In the present work, the FFA profile from C_{6:0} to C_{18:2} during ripening was evaluated. Reggianito cheeses were produced with a "wild" whey starter and with selected strains of *Lactobacillus helveticus* isolated from natural whey. Information from FFA profiles was processed by Principal Component Analysis (PCA) and Discriminant Analysis (DA). Despite the fact that FFA levels grew continuously during ripening, no differences were found among cheeses produced with different starters. Sensory analyses did not show differences among the different cheeses produced. All cheeses were of satisfactory sensory quality. Results from this study are important for an increased knowledge of the ripening process of Reggianito cheese, considering the scarce information currently existing on this subject. At the same time, the substitution of a natural whey starter for a selected strain starter appears to be a possible advantage in order to improve and to standardize the quality of the cheese.

KEY-WORDS: Lipolysis – Reggianito cheese – Selected starters – Sensory analysis.

1. INTRODUCCIÓN

La maduración de quesos es un proceso en el cual ocurren numerosas reacciones bioquímicas, sobre las proteínas, la materia grasa y la lactosa, responsables de importantes cambios en la textura y en las características sensoriales, que conducen a determinar la tipicidad de cada producto (Fox, 1993).

En ciertos quesos la degradación de la materia grasa, proceso conocido como lipólisis, es de gran relevancia en la formación de aroma y sabor, debido a la producción de ácidos grasos libres y de compuestos derivados de sus transformaciones. Este es el caso de los quesos adicionados de hongos, tales como Camembert, Cabrales, Roquefort y Gorgonzola, donde la lipólisis conduce a la formación de numerosos compuestos de gran influencia

¹ Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

en los caracteres organolépticos (Collins *et al.*, 2003; McSweeney y Sousa, 2000). Por otro lado, se tienen los quesos duros italianos tales como el Grana Padano y el Parmigiano Reggiano, en los cuales la hidrólisis que sufre la grasa es limitada. Sin embargo, y como consecuencia del prolongado período de maduración los agentes responsables de estas transformaciones pueden llegar a producir cambios significativos. Estos agentes son principalmente las bacterias del fermento natural de suero, las bacterias lácticas no pertenecientes al fermento (NSLAB) y la lipasa natural de la leche, debido a que estos quesos son elaborados con leche cruda (Battistoti y Corradini, 1993).

El queso Reggiano es la variedad más importante dentro de los quesos duros fabricados en Argentina, pudiendo considerarse descendiente de los productos italianos mencionados (Zalazar *et al.*, 1999). Sin embargo, diferencias en la tecnología y en la calidad de la leche, le han otorgado a este producto características propias a tal punto que en la actualidad puede considerarse como un queso típico Argentino. En este producto, elaborado con leche pasteurizada, el fermento natural de suero es ampliamente usado, tal como ocurre en sus antecesores italianos (Battistoti y Corradini, 1993; Caboni *et al.*, 1988). El empleo de estos fermentos naturales conlleva una serie de ventajas tales como la contribución importante al aroma y sabor, atribuido a la complejidad de su microflora, como así también una notable resistencia al ataque por fagos. Por otra parte, presentan algunas desventajas, tales como la variación en su composición microbiológica que incide en la carencia de uniformidad del producto final y la presencia de hongos y levaduras como contaminantes indeseables. Por esta razón, se han desarrollado numerosos estudios tendientes a preservar las ventajas de los fermentos naturales por un lado y minimizar sus efectos negativos por otro lado. En este sentido la inclusión de cepas seleccionadas en estos fermentos se ha empleado como una posible vía de solución al problema (Botazzi *et al.*, 1999; Hynes *et al.*, 2003; Reinheimer *et al.*, 1995 y 1996).

En este trabajo se caracterizó el queso Reggiano elaborado con suero fermento natural, desde el punto de vista del perfil de ácidos grasos libres y del análisis sensorial. Además, se observaron los cambios que ocurren al reemplazar el fermento natural con cepas seleccionadas de *Lactobacillus helveticus*. El principal objetivo fue examinar las modificaciones en los principales AGL a lo largo de la maduración, para los diferentes fermentos empleados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de quesos

Quesos del tipo Reggiano fueron producidos mediante la tecnología estándar adaptada a escala

piloto (Hynes *et al.*, 2003). Se elaboraron quesos control empleando suero fermento natural (SFN) y tres tipos de quesos experimentales con suero fermento natural, libre de microorganismos, inoculado individualmente con tres cepas de bacterias lácticas seleccionadas (Lh 133, Lh 138 y Lh 209) (Reinheimer *et al.*, 1995 y 1996).

Como materia prima se usaron 150 L de leche cruda entera ($3,9 \pm 0,2$ % de materia grasa), pH $6,60 \pm 0,05$ y $18^\circ \pm 1^\circ$ D de acidez (1° D = 100 mg de ácido láctico L^{-1}), suministrada por un establecimiento lácteo de la zona de Santa Fe (Argentina). El contenido de materia grasa de la leche se estandarizó a 2,5% y se pasteurizó en sistema discontinuo a $65^\circ C$ durante 20 min. La leche pasteurizada se repartió en dos tinajas queseras a razón de 75 L en cada una. Después de enfriar a $33^\circ C$, se adicionó cloruro de calcio hasta una concentración final de 0,02 % (p/v). Se agregó el fermento correspondiente (aprox. 4% v/v del volumen de leche) y después de 10 min. de agitación mecánica se adicionó coagulante líquido de bovino adulto 230 IM-CU mL^{-1} (Naturen, Chr. Hansen de Argentina S.A.) ($0,29 mL L^{-1}$ de leche). Luego de 18 – 20 min. se procedió al corte de la cuajada en forma manual, la mezcla se sometió a calentamiento bajo constante agitación hasta $44 - 45^\circ C$ ($0,5^\circ C min^{-1}$) para reducir la humedad de los granos de cuajada, se calentó más rápidamente ($1^\circ C min^{-1}$) hasta $52^\circ C$ y alcanzada dicha temperatura se interrumpió la agitación. Las cuajadas se separaron del suero y se pasaron a moldes cilíndricos donde se prensaron durante 24 h. Los quesos se desmoldaron y se sumergieron en salmuera (NaCl 20% p/v, pH 5,4) durante 6 días a $12^\circ C$. La maduración se llevó a cabo en cámara a $12^\circ C$ y 80% de humedad relativa por 180 días.

Para cada tipo de queso (control y tres experimentales) se fabricaron tres réplicas, de manera de minimizar la influencia de variables incontroladas tales como tipo de leche, factores ambientales, etc., con lo que se tuvo un total de 12 unidades experimentales (quesos) que se distribuyeron en 6 días de elaboración (dos quesos por día, de aprox. 6kg cada uno). La distribución de los quesos en los días de elaboración se realizó con un modelo completamente aleatorio.

Se tomaron muestras de la cuajada inmediatamente después de la elaboración y de los quesos a los 90 y 180 días de maduración de acuerdo al método estándar IDF (FIL-IDF, 50C:1995), y se conservaron a $-18^\circ C$ hasta la realización del análisis.

Composición global

Se determinó la composición global de los quesos control y experimentales a los 180 días de maduración. Se realizaron los análisis de extracto seco, materia grasa y proteínas totales, con métodos normalizados (FIL-IDF 4A:1982; Bradley, 1993; FIL-IDF 20B:1993, respectivamente).

Recuentos microbiológicos

La población total de bacterias lácticas termófilas presentes en las cuajadas y en los quesos a los 90 y 180 días de maduración, fue determinada sembrando diluciones de las muestras en placas conteniendo agar-leche descremada y contando las colonias luego de 48 horas de incubación a 37 °C, según los estándares de APHA (Frank *et al.*, 1993).

Evaluación de la lipólisis

Los ácidos grasos libres (AGL) desde C_{6:0} hasta C_{18:2} presentes en los quesos control y experimentales, se extrajeron de la muestra acidificada con n-hexano en caliente y se cuantificaron como ésteres etílicos por cromatografía de gases. Para el análisis de los ácidos grasos se empleó una columna capilar de sílice fundida (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) empacada con polietilenglicol, usando un cromatógrafo de gases Perkin Elmer serie 9000 equipado con un detector de ionización de llama (FID), un inyector split-splitless, nitrógeno como gas carrier y software Turbocrom v4.0. La temperatura inicial del horno fue de 50 °C por 4 min, se incrementó hasta 150 °C a razón de 10 °C min⁻¹ manteniéndose a esta temperatura por 3 min, se volvió a aumentar hasta 230 °C a razón de 10 °C min⁻¹ y se mantuvo a esta temperatura final por 5 min. La temperatura del inyector fue de 220 °C en modo split (1/52) y el detector se termostatóizó 275 °C (Perotti *et al.*, 2005). La concentración en mg kg⁻¹ de queso para los 9 AGL se calculó con el método del estándar interno (C_{7:0} y C_{17:0}) empleando curvas de calibrado para cada ácido.

Evaluación sensorial

Se determinaron las características sensoriales de los quesos control y experimentales al final de la maduración. El análisis se realizó por duplicado con un panel de 8 integrantes entrenados para la degustación de quesos duros, empleando un análisis descriptivo cuantitativo. Cada atributo se cuantificó utilizando una escala no estructurada de 10 cm anclada en los extremos. Se analizaron los siguientes atributos: aroma genuino, color, textura visual, textura oral, fracturabilidad, corte granular, flavor genuino, gusto salado y flavor residual.

Procesamiento estadístico de los resultados

El grado de lipólisis global expresado como la suma de las concentraciones de los 9 AGL cuantificados, se analizó con análisis de varianza usando el tiempo de maduración y los fermentos empleados como factores principales.

Los perfiles de lipólisis se analizaron más profundamente empleando técnicas multivariadas (análisis por componentes principales y análisis discriminante), con el propósito de estudiar las diferencias entre los quesos y las variaciones con el tiempo de maduración (software SPSS v. 10.0, SPSS Inc., Chicago, USA).

Los resultados obtenidos del análisis sensorial se procesaron aplicando análisis de variancia a cada atributo, con el objetivo de detectar diferencias entre los distintos fermentos.

Además, se investigó la posible existencia de relaciones entre los ácidos grasos libres volátiles (C_{6:0} y C_{8:0}) y los atributos de aroma y flavor genuino, mediante la aplicación de técnicas de regresión simple y múltiple.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición global y microbiología

Los valores promedio y desviación estándar para extracto seco, materia grasa y proteína total de los quesos al final de la maduración, se presentan en la Tabla 1. Estos parámetros fisicoquímicos se encontraron dentro de los valores establecidos por la Legislación Argentina para la variedad Reggianito (Código Alimentario Argentino, 2007). Los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros se analizaron con análisis de varianza. No se encontraron diferencias significativas en la composición global de los quesos elaborados con fermento natural de suero (quesos control) y con fermentos seleccionados (quesos experimentales).

El recuento de bacterias lácticas termófilas en las cuajadas antes del moldeo arrojó valores de aproximadamente 10⁷ UFC g⁻¹ para los quesos control y para aquellos en los que se emplearon las cepas Lh 133 y Lh 209. En cambio, las cuajadas con Lh 138, mostraron recuentos de 10⁹ UFC g⁻¹. Todos los quesos alcanzaron recuentos de 10⁸ UFC g⁻¹ a las 24 horas, para luego decrecer uno o

Tabla 1
Composición global de quesos Reggianito control y experimentales a los 180 días de maduración

| | Quesos control | Quesos experimentales | | |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | Lh 133 | Lh 138 | Lh 209 |
| Extracto seco (%) | 62.97 ± 0.58 ^a | 64.55 ± 2.53 ^a | 64.44 ± 2.29 ^a | 63.23 ± 3.63 ^a |
| Materia grasa (%) | 23.58 ± 1.09 ^a | 26.82 ± 2.60 ^a | 25.00 ± 2.77 ^a | 23.29 ± 1.26 ^a |
| Proteína total (%) | 28.94 ± 1.03 ^a | 28.73 ± 1.54 ^a | 29.61 ± 0.26 ^a | 29.69 ± 1.75 ^a |

^a Los promedios en una misma fila con igual letra superíndice, no son significativamente diferentes (p > 0,05).

dos órdenes durante la maduración. Los quesos experimentales con la cepa Lh 209 mostraron al final de la maduración los recuentos más bajos, alrededor de 10^6 UFC g^{-1} .

Evaluación de la lipólisis. Análisis multivariado

En el estudio de la lipólisis se analizaron 12 quesos (tres réplicas de los cuatro tipos) a tres tiempos de maduración (0, 90 y 180 días), obteniéndose un total de 36 perfiles cromatográficos de los que se calcularon las concentraciones de 9 AGL. Estos resultados se analizaron desde un aspecto univariado y también multivariado.

En la Figura 1 puede apreciarse la evolución de los AGL totales, calculado como la suma los 9 AGL cuantificados, en los distintos tipos de quesos durante la maduración. Resulta evidente el aumento de la concentración de AGL totales a medida que transcurre este proceso.

En la Tabla 2 se presentan los resultados para las concentraciones de los AGL ($mg\ kg^{-1}$ de queso) desde $C_{6:0}$ hasta $C_{18:2}$ a los 180 días de maduración, para los quesos elaborados en el presente trabajo (escala piloto). Los AGL más abundantes encontrados en las muestras, independiente del fermento empleado en los quesos, fueron los ácidos oleico ($C_{18:1}$), palmítico ($C_{16:0}$), esteárico ($C_{18:0}$) y mirístico ($C_{14:0}$), que representaron en conjunto el 86% del total. Para el queso Reggiano elaborado con Lh 138 se obtuvieron concentraciones de AGL significativamente superiores ($p < 0,05$) en comparación con los otros quesos. En esta tabla también se muestra el perfil de AGL de queso Reggiano elaborado a escala industrial (Sihufe *et al.*, 2007). Si se comparan los perfiles obtenidos para los quesos a escala piloto con los obtenidos en la industria, se observa que son comparables, hecho que permitiría extrapolar a escala industrial los resultados obtenidos a escala piloto.

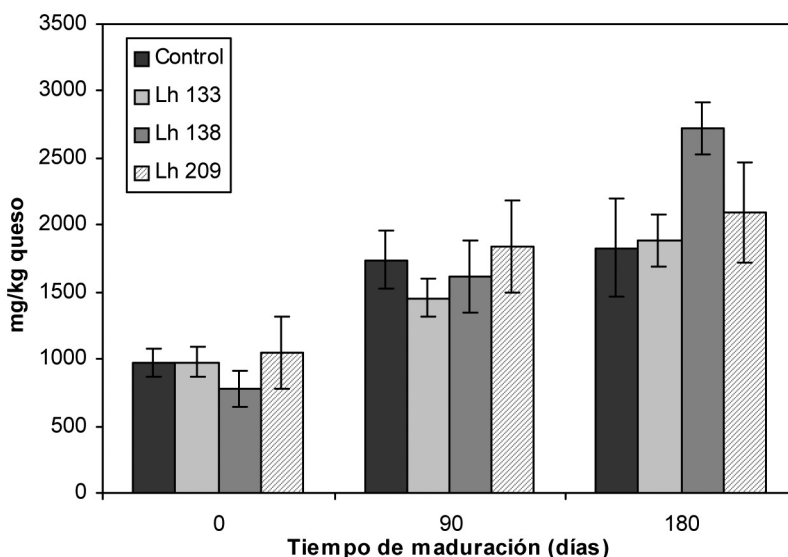


Figura 1
Evolución de los AGL totales durante la maduración en los distintos quesos elaborados a escala planta piloto

Tabla 2
Perfil de lipólisis de quesos Reggiano elaborados a escala piloto y a escala industrial, con 180 días de maduración

| Ácidos Grasos Libres ($mg\ kg^{-1}$ queso) | $C_{6:0}$ | $C_{8:0}$ | $C_{10:0}$ | $C_{12:0}$ | $C_{14:0}$ | $C_{16:0}$ | $C_{18:0}$ | $C_{18:1}$ | $C_{18:2}$ |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Quesos elaborados a escala piloto | | | | | | | | | |
| Control | 30,3 ± 6,6 ^a | 26,7 ± 6,1 ^a | 56,5 ± 13,3 ^a | 71,1 ± 11,2 ^a | 164,8 ± 19,5 ^a | 565,9 ± 114,2 ^a | 240,7 ± 55,8 ^a | 606,0 ± 107,7 ^a | 56,4 ± 7,8 ^a |
| Lh 133 | 40,3 ± 8,9 ^a | 28,6 ± 5,6 ^a | 63,6 ± 12,5 ^a | 70,5 ± 16,7 ^a | 184,5 ± 37,6 ^a | 620,6 ± 54,4 ^a | 259,3 ± 14,5 ^a | 613,8 ± 62,2 ^a | 77,5 ± 11,3 ^{a,b} |
| Lh 128 | 64,5 ± 16,4 ^b | 47,9 ± 11,1 ^b | 90,9 ± 11,5 ^b | 101,0 ± 12,1 ^b | 317,3 ± 95,2 ^b | 841,6 ± 27,5 ^b | 336,1 ± 43,1 ^b | 839,3 ± 115,2 ^{a,b} | 106,4 ± 41,6 ^b |
| Lh 209 | 39,8 ± 14,2 ^a | 29,5 ± 8,6 ^a | 61,3 ± 13,0 ^a | 64,2 ± 13,0 ^a | 229,5 ± 53,5 ^{a,b} | 656,2 ± 115,7 ^a | 232,9 ± 31,4 ^a | 670,0 ± 73,7 ^a | 92,5 ± 23,3 ^{a,b} |
| Quesos elaborados a escala industrial | 48,7 ± 9,9 | 34,6 ± 1,8 | 68,8 ± 2,1 | 78,1 ± 7,3 | 300,3 ± 39,5 | 727,1 ± 65,9 | 258,8 ± 18,9 | 776,3 ± 90,8 | 106,2 ± 9,8 |

^{a, b} Los promedios en una misma columna con diferente letra superíndice, son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En la Tabla 3 se observa el porcentaje de cada AGL respecto al valor de AGL totales. Estos valores se compararon con el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea según MacGibbon y Taylor (2006), pudiéndose notar que son similares. Con este análisis se concluye que la hidrólisis enzimática de la materia grasa que ocurre durante el proceso de maduración no es selectiva, ya que no se utilizaron lipasas exógenas que podrían efectuar una liberación preferencial de ácidos grasos a partir de la grasa de la leche.

Para profundizar el análisis de los resultados se construyó una matriz de datos multivariados con los 36 perfiles de lipólisis, compuesta de 36 filas (muestras) y 9 variables (ácidos grasos libres cuantificados), que se sometió al análisis por componentes principales (ACP). El ACP es un método estadístico multivariado cuya finalidad es simplificar las múltiples relaciones que puedan existir entre las variables observadas encontrando nuevas direcciones (componentes o factores) con mínima pérdida de la información facilitando la interpretación de los datos. Para la extracción de los componentes se empleó la matriz correlación, ya que los 9 ácidos grasos libres tenían valores medios y varianzas con órdenes de magnitud muy diferentes. Con este procedimiento se consiguió la estandarización de las variables a media cero y varianzas unitarias. Los contrastes de esfericidad de Barlett y la medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) se calculan previamente a la extracción de los componentes, para analizar la pertinencia de la aplicación del ACP. Los valores obtenidos para estos dos parámetros fueron grandes (642 para el estadístico chi cuadrado del test de Barlett y 0,81 para KMO), lo que confirmó que las variables estaban altamente correlacionadas pudiéndose explicar así la variabilidad de la matriz con un número menor de variables o componentes (Hair *et al.* 1999, Pérez López, 2004). Se seleccionaron tres componentes principales que explicaron el 96,1% de la variabilidad total del sistema, representando CP₁ el 82,9%, CP₂ el 10,2% y CP₃ el 3,0%, respectivamente. Los 9 ácidos grasos fueron considerados en el análisis debido a que sus comunalidades (porcentaje de varianza de cada variable explicada por los tres primeros componentes) fueron altas (superiores a 0,92). Todos los ácidos tuvieron cargas factoriales elevadas y positivas en CP₁ (caproico, 0,96; caprílico, 0,93; cáprico,

0,91; láurico, 0,89; mirístico, 0,86; palmítico, 0,96; esteárico, 0,93; oleico, 0,95 y linoleico, 0,80), no sucediendo lo mismo para CP₂ ya que solamente se encontraron valores intermedios para cuatro de los nueve ácidos, positivos para dos de ellos y negativos para los otros dos (linoleico, 0,49; mirístico, 0,46, láurico, -0,43 y cáprico -0,38). Los restantes AGL tuvieron cargas factoriales pequeñas en este componente. En relación a CP₃ se encontraron valores ligeramente bajos para dos ácidos (linoleico, 0,27 y esteárico, -0,30), y los restantes presentaron cargas factoriales inferiores a estos valores.

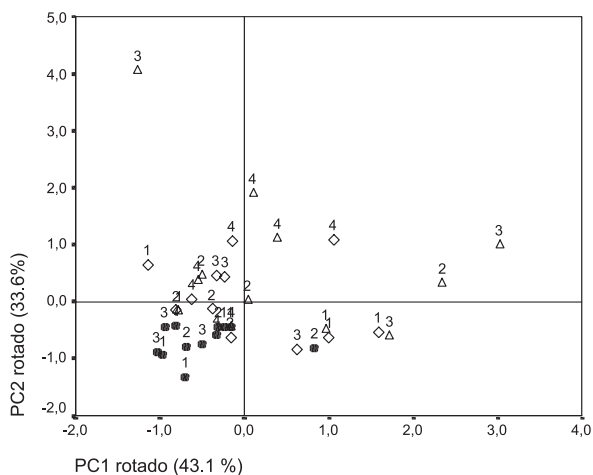
Posteriormente, se realizó la rotación de los componentes con el método VARIMAX de manera de maximizar las cargas factoriales de cada una de las variables en un único componente. La rotación afecta solamente la distribución de las proporciones de la varianza total explicada por cada componente, pero se mantiene la proporción acumulada de varianza total explicada por los tres CPs. Después del procedimiento de rotación, las cargas factoriales de todos los ácidos en los tres componentes fueron positivas. En CP₁ (43,1% de la varianza) contribuyeron de manera importante los ácidos de cadena corta (caproico, 0,69; caprílico, 0,88; cáprico, 0,91 y láurico, 0,90), en CP₂ (33,6%) mirístico (0,84) y linoleico (0,92). El ácido esteárico fue importante únicamente en CP₃ (19,4%) con un valor de 0,69. Los ácidos de cadena larga que presentaron los mayores valores de concentración en la lipólisis, participaron en forma compartida en CP₂ y CP₃ para palmítico (0,62 y 0,61, respectivamente) y en los tres CPs para oleico (0,52, 0,58 y 0,57, respectivamente).

Se calcularon los "scores" o puntuaciones de las muestras de quesos en los CP₁, CP₂ y CP₃ rotados, se graficaron las tres combinaciones posibles de estos CPs en dos dimensiones y se analizó cual de ellas mostraba una mejor separación entre los grupos de muestras. El mapa factorial que mejor representó esta separación fue la combinación CP₁ versus CP₂ (Figura 2), donde las muestras se identificaron por tiempo y por tipo de queso. Se observaron diferencias por tiempo de maduración de acuerdo a los dos ejes. El origen de coordenadas representa un perfil de lipólisis promedio. Las cuajadas se agruparon en el cuadrante negativo tanto para CP₁ como para CP₂, las muestras de maduración intermedia se localizaron cer-

Tabla 3
Porcentajes de AGL con respecto a los AGL totales para quesos Reggianito y porcentajes de AG en la grasa de leche

| Ácidos Grasos Libres | C _{6:0} | C _{8:0} | C _{10:0} | C _{12:0} | C _{14:0} | C _{16:0} | C _{18:0} | C _{18:1} | C _{18:2} |
|---|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Quesos Reggianito (promedio para los cuatro tipos a 180 días) | 2,0 | 1,5 | 3,1 | 3,5 | 10,3 | 31,4 | 12,7 | 31,7 | 3,8 |
| Grasa de leche (1) | 2,5 | 1,5 | 3,2 | 3,6 | 11,1 | 27,9 | 12,2 | 21,1 | |

(1) MacGibbon y Taylor, 2006.



● Cuajadas; ◊ quesos de 90 días y △ quesos de 180 días de maduración.
Quesos control (1), experimentales con Lh 133 (2), con Lh 138 (3) y con Lh 209 (4)

Figura 2

Gráfica de "scores" de las muestras de quesos definidas por los dos primeros componentes principales rotados CP₁ y CP₂, obtenida en el análisis por componentes principales de los perfiles de ácidos grasos libres (AGL) de quesos Reggiano (escala piloto) (n = 36)

ca del origen de coordenadas y las de final de maduración se ubicaron en su mayoría en el cuadrante positivo con perfiles superiores al promedio. De este análisis se puede inferir que los perfiles de lipólisis aumentaron con el tiempo en el sentido positivo de CP₃. Respecto a la diferenciación de las muestras por tipo de queso, se aprecia una separación en los cuatro grupos predefinidos aunque más débil que con el tiempo, lo que indicaría perfiles de lipólisis algo similares entre los distintos tipos de quesos.

A fin de validar la conclusión anterior basada en la observación visual de la gráfica de "scores", se aplicó el análisis discriminante lineal (DA) usando como variables predictoras los tres componentes

principales seleccionados y como factor de clasificación el tiempo y el tipo de fermento. El análisis discriminante es una técnica estadística que se usa para clasificar individuos u objetos en grupos únicos y mutuamente excluyentes sobre la base de un set de variables independientes, donde se obtiene una combinación lineal de las mismas que discrimina entre los grupos definidos a priori de tal forma que se minimicen clasificaciones erróneas.

Con respecto al factor tiempo, se encontró una función discriminante significativa (p < 0,05) que permitió clasificar correctamente el 80,6% de las muestras en los 3 grupos predefinidos, el 100% de las cuajadas, el 83% de las muestras con 90 días y el 58% de las de 180 días de maduración. La situación no fue la misma en relación al tipo de fermento utilizado en las muestras de quesos, ya que no se encontró una función discriminante significativa. Sin embargo, a partir de la gráfica de PC₁ y PC₂ scores es posible estimar visualmente algunas diferencias. Los quesos con 180 días de maduración y producidos con cepas de Lh 138 (ver figura 2), se localizaron más alejadas del origen de coordenadas y mostraron los mayores valores de scores para estos componentes. Esta situación podría ser interpretada como una actividad lipolítica mayor de *Lactobacillus helveticus* 138 en relación con las otras cepas estudiadas.

Análisis sensorial

Los valores promedio y desviaciones estándar de los diferentes atributos sensoriales analizados al final de la maduración, se presentan en la Tabla 4.

De los atributos analizados, solamente para flavor residual se encontró diferencia significativa (p < 0,05) entre los distintos fermentos empleados. Los valores más intensos se hallaron para los quesos elaborados con los fermentos Lh 133 y Lh 138, y menor puntuación para Lh 209. Sin embargo los panelistas no consideraron que estas diferencias

Tabla 4
Análisis sensorial de quesos Reggiano elaborados a escala piloto, a los 180 días de maduración

| Atributo | Control | Experimentales | | | Nivel de significancia |
|-----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | | Lh 133 | Lh 138 | Lh 209 | |
| Aroma genuino | 5,0 ± 0,5 | 5,0 ± 0,2 | 4,6 ± 0,5 | 5,4 ± 0,2 | NS |
| Color | 5,4 ± 0,2 | 5,5 ± 0,3 | 4,8 ± 0,9 | 5,1 ± 0,5 | NS |
| Textura visual | 7,9 ± 0,2 | 7,9 ± 0,1 | 7,9 ± 0,4 | 7,1 ± 0,2 | NS* |
| Corte granular | 7,3 ± 0,4 | 7,5 ± 0,2 | 7,0 ± 0,7 | 7,1 ± 0,7 | NS |
| Fracturabilidad | 8,2 ± 0,3 | 8,1 ± 0,2 | 7,8 ± 0,7 | 8,3 ± 0,2 | NS |
| Textura oral | 7,5 ± 0,2 | 7,2 ± 2,0 | 6,7 ± 0,4 | 7,3 ± 0,4 | NS |
| Flavor genuino | 8,1 ± 0,4 | 8,0 ± 0,3 | 7,7 ± 0,4 | 7,9 ± 0,4 | NS |
| Flavor residual | 2,3 ± 0,4 ^a | 4,2 ± 0,3 ^b | 3,6 ± 0,5 ^b | 1,0 ± 0,3 ^c | ** |
| Gusto salado | 5,9 ± 0,5 | 5,9 ± 0,2 | 5,9 ± 0,1 | 6,0 ± 0,2 | NS |

NS: no significativamente diferentes, nivel de confianza 0,05. NS *: no significativamente diferentes, nivel de confianza 0,01. **: significativamente diferentes, p < 0,05.

Las escalas se establecieron de la siguiente forma: aroma genuino (1 = débil, 9 = muy intenso), color (1 = débil, 9 = muy intenso), textura visual: grietas mecánicas y ojos (1 = mucho, 9 = nada), corte granular (1 = no granular, 9 = muy granular), fracturabilidad (1 = nada, 9 = mucho), textura oral (1 = áspero, arenoso, pastoso, 9 = no áspero, no arenoso, no pastoso), flavor genuino: sabroso, salado y ligeramente picante (1 = extremadamente débil, 9 = normalmente intenso), gusto salado (1 = débil, 9 = intenso), flavor residual (1 = ausente, 9 = mucho).

justificaban una diferenciación neta de estos quesos con respecto al resto.

De este análisis se puede inferir que los quesos control y experimentales se pueden considerar similares. Los mayores valores encontrados para los AGL de los quesos con Lh 138, no se tradujeron en diferencias apreciables desde el punto de vista sensorial.

Análisis de relaciones entre lipólisis y caracteres sensoriales

De acuerdo a lo demostrado por diferentes autores algunos ácidos grasos libres, especialmente los de cadena corta aunque están presentes en baja concentración, contribuyen directamente al flavor de quesos muy madurados, o bien influyen positivamente en el sabor de fondo de ciertos quesos como el Cheddar (Fox *et al.*, 1993; Collins *et al.*, 2003). Por esta razón, se trató de encontrar la existencia de una relación entre los AGL de cadena corta ($C_{6,0}$ y $C_{8,0}$) y el atributo de aroma y flavor genuino. Para ello se aplicaron métodos de regresión lineal simple y múltiple, considerando estos dos atributos como variables dependientes y los ácidos como variables independientes. En ninguno de los casos se obtuvo un modelo de regresión lineal que permitiera explicar la variabilidad en el aroma y flavor, ya que los coeficientes de correlación obtenidos fueron muy bajos indicando una falta de asociación entre las variables. Esto se justifica por el hecho que la contribución de los ácidos al aroma es difícil de definir, debido a distintos factores como las características de la pasta, el pH, el tenor de calcio, el contenido de humedad y porcentaje de grasa, el grado de maduración, la repartición de los ácidos entre la fase grasa y acuosa, la asociación con las proteínas y péptidos, entre otros (McSweeney y Sousa, 2000; Collins *et al.*, 2003, Deeth y Fitz-Gerald, 2006).

Por otro lado, los quesos que se analizaron en este trabajo (control y experimentales), presentan un grado de lipólisis discreto, muy lejano al obtenido para productos en donde la acción enzimática es considerada muy importante y para los cuales se han informado buenas correlaciones entre los AGL y caracteres sensoriales (Collins *et al.*, 2003; Caboni *et al.*, 1988).

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se presentan perfiles de ácidos grasos libres y características sensoriales para quesos Reggiano elaborados a escala piloto, con suero fermento natural y con fermentos seleccionados de *Lactobacillus helveticus*. Se compararon estos resultados con los obtenidos para quesos a escala industrial, no observándose diferencias apreciables entre las concentraciones de AGL.

Los resultados obtenidos resultaron útiles para comprender mejor el proceso de maduración de este queso duro típico argentino, dada la escasa información disponible en este sentido.

Se pudo establecer una escasa diferencia desde el punto de vista de la transformación primaria de la materia grasa entre los productos elaborados con suero fermento natural y con fermentos seleccionados aislados del propio suero. Estos resultados permiten que se pueda considerar con muy buenas perspectivas el reemplazo de los fermentos naturales por los seleccionados con todas las ventajas que ello implica sobre la calidad del queso pero conservando las características sensoriales típicas del producto. Esta posibilidad se ve más reforzada si se consideran los resultados que para el mismo reemplazo se obtuvieron del estudio de la proteólisis (Hynes *et al.*, 2003).

Los mayores valores observados para los quesos elaborados con el fermento Lh 138, no se tradujeron sin embargo, en diferencias desde el punto de vista sensorial, lo que indicaría que los AGL no son únicamente los compuestos que más influyen sobre características tales como aroma y sabor.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Lic. N. Sabbag por su colaboración en el análisis sensorial de los quesos.

BIBLIOGRAFÍA

- Battistotti B, Corradini C. 1993. Italian cheese. En P. Fox (Ed.). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 2 (pag. 221-243). Chapman & Hall, London (1993).
- Bottazzi V, Parisi M, Cocconcelli P. 1999. Colture di batteri lattici per la produzione di formaggio grana e tipizzazione molecolari dei ceppi. *Scienza e Técnica Lattiero-Casearia* **50**, 179-194.
- Bradley RL, Arnold E, Barbano DM, Semerad RG, Smith DE, Vines, B.K. 1993. Chemical and physical methods. Standard methods for the examination of dairy products, pag. 433-453. American Public Health Association, Washington DC, Ed. R. Marshall.
- Caboni MF, Zannoni M, Lercker G. 1988. Lipolisi del grasso del Parmigiano-Reggiano en Atti giornata studio composizione e caratteristiche Parmigiano-Reggiano, pag. 113-121, Cons. Form. Parmigiano-Reggiano (Ed.). Regio Emilia.
- Collins YF, McSweeney PLH, Wilkinson M.G. 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal* **13** (11) 841-866.
- Deeth H, Fitz-Gerald C. 2006. Enzymes and hydrolytic rancidity. En P. Fox y P. McSweeney (Ed.). *Advanced Dairy Chemistry. Vol. 2 Lipids* (pag. 481-530). Springer Science, New York.
- FIL-IDF 50C: Lait et produits Laitiers. Guide de L'échantillonnage. Brussels, Belgium (1995).
- FIL-IDF 4A: Formaggio e formaggio fuso. Determinazione della matrice secca. Metodo di riferimento. Brussels, Belgium (1982).
- FIL-IDF 20B: Latte. Determinazione del tenore in azoto. Metodo di riferimento. Brussels, Belgium (1993).
- Fox PF, Law J, McSweeney P, Wallace J. 1993. Biochemistry of cheese ripening. En P. F. Fox (Ed.). Cheese:

- Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 1 (pag. 389). General Aspects. Chapman & Hall, London.
- Frank J, Christen G, Bullerman L. 1993. Test for groups of microorganism. In R. Marshall (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, Washington D.C.
- Hair J, Anderson R, Tatham R, Black W. 1999. Análisis Multivariado, Otero (Ed.), Prentice Hall, Madrid.
- Hynes E, Bergamini C, Suárez V, Zalazar C. 2003. Proteolysis in Reggianito Argentino cheeses manufactured with natural whey cultures and selected strains of *Lactobacillus helveticus*. Journal of Dairy Science **86**, 3831-3840.
- MacGibbon A, Taylor M. 2006. Composition and structure of bovine milk lipids. En P. F. Fox and P. McSweeney (Ed.). Advanced Dairy Chemistry. Vol. 2 Lipids (pag. 32). Springer Science, New York.
- McSweeney P, Sousa M. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: a review. Le Lait **80**, 293-324.
- CAA, Código Alimentario Argentino (2007). <http://www.anamt.gov.ar/codigoa/caa1.htm>.
- Pérez López C. 2004. Técnicas Estadísticas con SPSS®, Pearson (Ed.), Prentice Hall, Madrid.
- Perotti MC, Bernal SM, Meinardi CA, Zalazar CA. 2005. Free fatty acid profiles of Reggianito Argentino cheese produced with different starters. International Dairy Journal **15**, 1150 – 1155.
- Reinheimer J, Quiberoni A, Tailliez P, Binetti A, Suárez V. 1996. The lactic acid microflora of natural whey starters used in Argentina for hard cheese production. International Dairy Journal **6**, 869 – 879.
- Reinheimer J, Suárez V, Bailo N, Zalazar C. 1995. Microbiological and Technological characteristics of natural whey cultures for Argentinian hard cheese production. Journal of Food Protection **58** (7) 796 – 799.
- Sihufe G, Zorrilla S, Mercanti D, Perotti M.C, Zalazar, CA, Rubiolo A. 2007. The influence of ripening temperature and sampling site on the lipolysis in Reggianito Argentino cheese. Food Research International **40** (10) 1220-1226.
- Zalazar C, Meinardi C, Hynes E. 1999. Quesos típicos Argentinos. Centro de Publicaciones Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.

Recibido: 15/3/07
Aceptado: 11/12/07