

Viabilidad y efectos del probiótico *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* en queso gauda semidescremado chileno

Carmen Brito C., Carolina Navarrete M., Renate Schöbitz T., Mariela Horzella R.

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias.
Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

RESUMEN. El objetivo del estudio es conocer la sobrevivencia del probiótico *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* agregado durante el procesamiento de Gauda semidescremado, durante maduración (21 días) y en comercialización (14 días), así como la influencia de este organismo sobre la calidad del producto. Los tratamientos fueron: T1 (testigo): Gauda de contenido de grasa normal; T2: Queso Gauda semidescremado, QGS; T3: QGS, con probiótico adicionado junto al agregado del cultivo iniciador; T4: QGS, con probiótico adicionado al cocimiento de la cuajada. Para el recuento del probiótico se usó la metodología descrita por la Asociación de Salud Pública Americana (APHA), proteólisis por método de tirosina soluble en ácido tricloroacético (TCA) y, los análisis físicos y químicos por métodos estandarizados en Normas de la Federación Internacional de la Leche y Normas chilenas. Los recuentos obtenidos fueron de 10^8 ufc/g y 10^7 ufc/g en los quesos con adición del probiótico (T3 y T4, respectivamente) cerca del nivel de inoculo (10^8 ufc/g), durante el período de estudio (35 días). La proteólisis se incrementó en forma normal y fue similar en todos los tratamientos durante los 35 días estudiados. Los tratamientos con reducción de grasa presentaron, aproximadamente, un 31% menos de grasa que el tratamiento testigo, y mayor humedad. Entre los tratamientos no se evidenció diferencias en sabor y apreciación general, en cambio los quesos con reducción de grasa resultaron más firmes, menos cohesivos y similares en elasticidad que el testigo.

Palabras clave: Gauda semidescremado chileno, probióticos, viabilidad.

SUMMARY. Viability and effects of the probiotic *Lactobacillus aracasei ssp aracasei* in Chilean low-fat Gauda cheese. The objective of this study is to infer the survival of the probiotic *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* added during the processing of low-fat Gouda cheese, during the maturation (21 days) and the commercialization (14 days), in order to see the influence that this organism has on the quality of the product. The treatments were: T1 (control): Gouda with normal fat content; T2: Low fat Gouda cheese (QGS) T3: QGS, with additional probiotic added with the initial culture; T4: QGS, with the probiotic added in the cooking of the curd. For the count of the probiotic, the methodology was used set forth by the American Public Health Association, (APHA), proteolysis by the method of soluble tyrosine in trichloroacetic acid (TCA), and the physical and chemical analysis using the methods standardized by the International Dairy Federation, and Chilean normative. The counts obtained were from 10^8 ufc/g y 10^7 ufc/g in the cheeses that had the probiotic additive (T3 and T4, respectively) close to the level of innocuous (10^8 ufc/g) during the study period of 35 days. The proteolysis incremented normally, and was the same in all of the treatments during the 35 days studied. The treatments with fat-reduction presented approximately, 31% less fat than the control treatment, and also higher moistness. Within the treatments, there was no evidence of taste and general feel; in turn the cheeses with the reduction of fat resulted firmer, less cohesive, than the control, and with similar elasticity.

Key words: Chilean lowfat Gauda cheese, probiotics, viability.

INTRODUCCIÓN

Desarrollar productos que promuevan salud, es uno de los desafíos actuales de la industria de alimentos, tanto por la grave situación mundial de sobrepeso, como por los requerimientos de consumidores cada vez más concientes de buscar productos adecuados a una alimentación saludable, tales como los productos reducidos en grasa y aquellos que contienen elementos

especiales como probióticos, entre otros. El queso y los lácteos, son apreciados por ser altamente nutritivos, particularmente por contener componentes esenciales como proteínas, grasa, vitaminas y minerales (1). Sin embargo, el consumo de queso, ha sido asociado al riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares y cáncer, debido al contenido de grasa, colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad), de ácidos grasos saturados y de sal, que presentan las variedades tradi-

cionales (2). La grasa de este producto está constituida aproximadamente por 66% de ácidos grasos saturados, 30% monoinsaturados y 4% de poliinsaturados (1). No obstante, el contenido graso tiene especial importancia en la calidad sensorial del queso, particularmente sobre la textura y el sabor, parámetros que normalmente se ven afectados negativamente al reducir la grasa (3).

De acuerdo a varios autores, los alimentos probióticos son productos que contienen microorganismos definidos y viables en concentración suficiente para modificar la microflora del huésped, ejerciendo así un potencial efecto beneficioso sobre la salud de éste, dado que producen un balance de la microflora intestinal, mejora del sistema inmune e incluso previenen el cáncer (4). Al respecto se ha indicado que el número mínimo de bacterias probióticas al momento del consumo de un producto debe ser entre 10^6 y 10^7 células viables por mililitro o gramo de producto. Además, los cultivos denominados probióticos, deben tolerar las condiciones ácidas del estómago y sobrevivir a las enzimas digestivas y sales biliares del intestino delgado, a consecuencia de lo cual están capacitados para colonizar el ileon terminal y el colon (5).

El queso ofrece ciertas ventajas como vehículo de transporte de los microorganismos probióticos por tener un pH más alto que otros productos lácteos actualmente comercializados con agregado de probióticos, por ejemplo el yogurt, lo que provee de un medio más estable para mantener su sobrevivencia, además, la matriz de este producto y su contenido de grasa pueden ofrecer protección a las bacterias probióticas durante su paso a través del tracto gastrointestinal, lo que se estudió específicamente en queso Cheddar con agregado del probiótico *Enterococcus faecium*, donde se probó que el queso es mejor vehículo que el yogurt para el transporte de este probiótico al tracto gastrointestinal (6). Se han introducido bacterias probióticas en diferentes variedades de queso logrando la viabilidad de éstas por distintos tiempos, con diferentes características sensoriales y funcionales en el producto, ya que cada cepa tiene propiedades únicas con respecto a la velocidad de crecimiento, actividad metabólica y proteolítica (5). Varios investigadores han reportado la incorporación de probióticos a ciertas variedades, ej. *Bifidobacterium bifidum* en queso Cheddar (7), *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* en Cottage (8), *Lactobaci-*

llus casei y *Lactobacillus acidophilus* en Crescenza (9), *Lactobacillus acidophilus* en queso blanco (10) y *Lactobacillus paracasei* en queso duro de cabra (11).

El queso Gauda chileno, es una versión modificada del Gouda holandés, introducido al país por especialistas europeos, en la década de 1950 (12). La Norma Chilena NCh 2478 (13), lo define como un queso sin cáscara (madurado en bolsa termorretráctil), de textura cerrada o con escasos ojos redondos (de cultivo), consistencia firme y elástica, adecuada para cortar, rebajar o laminar, color amarillo pálido y forma rectangular, con pesos entre 2 y 15 Kg. El Gauda (grasa normal), ocupa el primer lugar en Chile en producción industrial (aprox. 70%), y es el más importante en comercialización interna y en la exportación de quesos (13, 14).

El objetivo del presente estudio fue determinar la sobrevivencia del probiótico *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, agregado en el proceso de queso Gauda semidescremado en dos diferentes etapas, así como determinar posibles efectos de éste sobre la maduración y sobre las características de calidad del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tratamientos

Se estudiaron 4 tratamientos con 3 réplicas cada uno. Las variables estudiadas fueron: reducción del contenido de materia grasa, incorporación del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, y el momento de agregado del probiótico: tratamiento 1 (testigo): Queso Gauda normal en grasa (*), tratamiento 2: Queso Gauda semidescremado (QGS) (**), tratamiento 3: QGS (**) con cultivo *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, agregado al inicio del proceso (con el estárter) y tratamiento 4: QGS (**) con cultivo *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, agregado en etapa avanzada de proceso, durante la cocción de la cuajada.

* Conteniendo entre 50 – 51g de materia grasa en 100g de extracto seco.

** Conteniendo alrededor de 30% menos de materia grasa que el testigo.

Se usó mesófilo mixto normal como cultivo iniciador, conteniendo cepas de *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, *Lactococcus lactis ssp. diacetylactis* y *Leuconostoc cremoris* (LD-Culture CH-N-22 del Laboratorio Chr. Hansen). El

cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* utilizado en los tratamientos 3 y 4 corresponde al DVS liofilizado *Lactobacillus casei* 01 del Laboratorio Chr. Hansen. Los quesos se maduraron en una cámara climatizada a $14 \pm 1^\circ \text{C}$, $85 \pm 1\%$ de humedad relativa y, ventilación.

Análisis

Recuento de bacterias probióticas: se midió la evolución del *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* durante la maduración (0, 14, 21 días), y, posteriormente durante dos semanas de comercialización (28 y 35 días). El protocolo de siembra se realizó por MRS según American Public Health Association, (APHA), 1992 (15), modificado según indicaciones del proveedor del cultivo, usando agar de Man Rogosa Sharpe (MRS), con agregado de glucosa e incubando las placas en aerobiosis, a 36°C por 72 h. (Chr. Hansen Lab, 2007), (8).

Proteólisis: se midió a los 0 y 21 días de maduración por el método de tirosina soluble en TCA (12%), Hull descrito por Samples, 1984 (16). La proteólisis se evaluó por el diferencial de tirosina soluble producida entre fines (21 días) e inicio de maduración (día 0). El método consiste en separar, mediante el agregado de ácido tricloroacético, los péptidos pequeños y los aminoácidos, desde el resto de mayor tamaño molecular que quedan en el precipitado, los cuales al agregar el reactivo Folin – Ciocalteu desarrollan color azul por la reducción del fosfomolibdato- fosfotungstato del reactivo, por los aminoácidos aromáticos (tirosina), la intensidad de color se mide espectrofotométricamente (absorbancia a 650nm) y se convierten a su equivalente en $\mu\text{g/ml}$ utilizando la curva estándar.

Análisis físicos y químicos: se realizaron a los 21 días de maduración (duplicado), sólidos totales: método gravimétrico. IDF/FIL 4 A: 1982, descrito por PINTO et al.; 1998 (17), materia grasa: método Van Gulik, NEN 3059:1957. LEIDEN, HOLANDA; ISO N° 3433. 1975, descrito por PINTO et al.; 1998 (17), el contenido total de cloruros (NaCl): por titulación colorimétrica. AOAC. INTERNATIONAL. 33.7.10. 1995, descrito por PINTO et al.; 1998 (17) y pH: a los 0 y 21 días, a través del método potenciométrico NCh.1671 (18).

Evaluación sensorial: se realizó mediante un análisis descriptivo, con escala de 1 a 7 puntos, en atributos de apreciación general, sabor y perfil de textura

(firmeza, elasticidad, adhesividad y cohesividad) (19). Los conceptos del puntaje son; 1: no desarrollado; 4: normal; 7: demasiado intenso para sabor, firmeza, elasticidad y adhesividad. Para cohesividad, 1: quebradizo; 4: normal; 7: muy cohesivo y para apreciación general, 1: muy malo; 4: regular; 7: muy bueno. El análisis fue realizado por un grupo de 8 panelistas entrenados.

Análisis estadísticos: Se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía, previo test de homogeneidad de varianza para validar el análisis, en el caso de resultar negativa se usó la prueba alternativa de Kruskal-Wallis. Análisis de Comparación múltiple (test de Tukey) y, en caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos también se usó una prueba de concordancia (Kendall), para verificar concordancia entre panelistas. Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico STATGRAPHICS plus 5.1. La prueba de concordancia, en tanto, se desarrolló mediante el uso del programa SPSS 10.1.

RESULTADOS

En Tabla 1 se presentan los recuentos del probiótico durante maduración (0, 14 y 21 días) y durante el período de comercialización estudiado (28 y 35 días).

TABLA 1
Recuento de *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* durante la maduración (21 días) y en comercialización (28 y 35 días) del queso Gauda semidescremado (*).

Tiempo (días)	T3 (log ufc/g)	T4 (log ufc/g)
0	8,69 ± 0,40 a	8,04 ± 0,06 a
14	8,01 ± 1,11 a	7,95 ± 0,06 a
21	8,72 ± 0,35 a	7,59 ± 0,54 a
28	8,25 ± 0,29 a	7,60 ± 0,31 a
35	8,46 ± 0,28 a	7,87 ± 0,15 a

* Promedio de 3 réplicas.

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, a un nivel de 95% de confianza.

Se observa que los recuentos se mantuvieron en niveles estables en los tratamientos con agregado de cultivo probiótico hasta los 35 días estudiados, no presentándose diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes tiempos de maduración ni entre trata-

mientos, con valores de 8,46 y 7,87 log ufc/g a fines del estudio. No obstante, T4 tuvo, a lo largo de la maduración, un recuento del orden de 10^7 ufc/g, alrededor de un ciclo logarítmico por debajo de T3, que siempre se mantuvo en 10^8 ufc/g, correspondiente al valor del inóculo inicial.

TABLA 2
Contenido de tirosina soluble en TCA 12% (mg/g) al inicio y final de la maduración del Gauda semidescremado (*).

Tratamiento	Día 0 $\bar{X} (\pm\sigma)$	Día 21 $\bar{X} (\pm\sigma)$	Diferencia (mg/g)
T1	0,154 ± 0,04 ^{a,A}	0,351 ± 0,04 ^{a,B}	0,197
T2	0,179 ± 0,06 ^{a,A}	0,428 ± 0,02 ^{a,B}	0,239
T3	0,248 ± 0,04 ^{a,A}	0,449 ± 0,07 ^{a,B}	0,201
T4	0,236 ± 0,03 ^{a,A}	0,436 ± 0,11 ^{a,B}	0,200

* Promedio de 3 réplicas, análisis en duplicado.

Letras distintas (minúsculas) en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos a un nivel de 95% de confianza y, distintas mayúsculas indican diferencias entre tiempos.

La Tabla 2 muestra el desarrollo de la proteólisis, que fue medida mediante la producción de tirosina soluble en ácido tricloroacético al 12% (mg/g), a inicio y fin de maduración. Tanto al inicio como al final de la maduración, no hubo diferencias significativas ($P>0,05$) entre tratamientos en el contenido de tirosina soluble en TCA, no obstante se incrementa en el tiempo en cada tratamiento, desde valores entre 0,154 (T1) y 0,248 (mg/g) (T3) al inicio de maduración, hasta valores entre 0,351 (T1) y 0,449 (mg/g) (T3) a

fines de ésta. A consecuencia de lo anterior, el diferencial del contenido de tirosina soluble en TCA entre fines e inicio de maduración resultó sin diferencias significativas ($P>0,05$) entre tratamientos, con valores entre 0,197 y 0,239 mg de tirosina soluble/gr de queso, lo que indica que el cultivo probiótico utilizado no influyó significativamente en los procesos proteolíticos ocurridos durante maduración.

Los resultados de humedad, materia grasa, cloruro de sodio y pH de los quesos se presentan en la tabla 3, junto con las especificaciones de la Norma respectiva, INN, 1999, (13).

El contenido de humedad en las muestras del tratamiento T1 resultó inferior al resto de los tratamientos y estadísticamente diferente ($p<0,05$) a T2: Gauda semidescremado sin cultivo adjunto, lo cual es de esperar en un queso con toda su grasa (T1), cuyo valor resultó superior al indicado en la Norma NCh 2478 (13). Los tratamientos T2, T3 y T4: Gauda semidescremados, presentan mayor humedad, consecuente con la reducción de grasa, aunque todos están con valores por encima de lo especificado en la Norma chilena respectiva.

El contenido de materia grasa, resultó estadísticamente diferente ($p<0,05$) y superior en las muestras del T1 respecto a las de las muestras de los tratamientos T2, T3 y T4 consecuente con la operación de estandarización de las leches utilizadas en el procesamiento de esos tratamientos (2,8 g/100mL en T1 y 1,6 g/100mL en T2, T3 y T4), con una reducción de materia grasa cercana al 31% en los quesos semidescremados respecto al queso Gauda del tratamiento testigo.

El contenido de sal, que, junto con el pH y la humedad, influye en gran medida en las características

TABLA 3
Características físicas y químicas (*) del queso Gauda y Gauda semidescremado al final de maduración (21 días) y Especificaciones (INN, 1999).

Parámetro (g/100g)	Q Gauda		Tratamientos			
	T1 $\bar{X} (\pm\sigma)$	NORMA INN 2099	T2 $\bar{X} (\pm\sigma)$	T3 $\bar{X} (\pm\sigma)$	T4 $\bar{X} (\pm\sigma)$	NORMA INN 2099
Humedad	50,23 ± 0,91 ^a	46 - 48	54,19 ± 1,30 ^b	50,84 ± 2,00 ^{ab}	52,86 ± 0,85 ^{ab}	48 - 50
MG/ES (‡)	54,45 ± 2,57 ^b	45 - 59,9	38,98 ± 0,47 ^a	36,15 ± 2,20 ^a	37,78 ± 0,59 ^a	25,0 - 44,9
NaCl	1,08 ± 0,05 ^a	No hay	0,88 ± 0,08 ^a	0,83 ± 0,17 ^a	0,99 ± 0,23 ^a	No hay
S/H (‡)	2,11 ± 0,12 ^a	No hay	1,61 ± 0,17 ^a	1,60 ± 0,27 ^a	1,85 ± 0,44 ^a	No hay
pH	5,22 ± 0,04 ^a	5.1 - 5.3	5,38 ± 0,06 ^{ab}	5,48 ± 0,10 ^b	5,40 ± 0,09 ^{ab}	5.1 - 5.3

*Promedio de 3 réplicas, análisis en duplicado.

‡ Materia grasa en extracto seco | Sal en humedad.

Letras distintas en cada fila indican diferencia significativa entre tratamientos, a un nivel de 95% de confianza.

sensoriales, presentó valores entre 0,83 y 1,08g/100g de queso, sin diferencias significativas entre las muestras de los 4 tratamientos ($p>0,05$).

El pH presentó diferencias estadísticas ($p<0,05$) entre el testigo (5,22) y los tratamientos de reducida grasa (5,38 a 5,48), estando el primero dentro del rango normal para la variedad y los reducidos en grasa ligeramente por sobre la Norma chilena (18).

La Tabla 4 presenta los resultados de la Evaluación sensorial de las muestras de queso obtenidas a los 21 días de maduración.

En sabor, los cuatro tratamientos son similares entre sí ($P>0,05$) con valores correspondientes al concepto de “sabor normal” (4 pts), aunque T1 posee una puntuación mayor (5 pts), es decir, “sabor ligeramente intenso”, en la escala usada, de valores extremos, 1: sabor no desarrollado, 7: sabor demasiado intenso y 4: normal (19).

Con relación a textura, la firmeza presentó diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos ($p<0,05$), siendo inferior en el testigo con 2,79 puntos; lo que según la escala aplicada corresponde a una firmeza inferior a lo normal (4 pts), en cambio T2, T3 y T4, tienen puntajes promedio cercanos a 5 puntos, es decir “ligeramente firme” (tabla 4).

El análisis estadístico indica que en elasticidad, los cuatro tratamientos son similares ($P>0,05$), aunque se observa que el testigo tiene un puntaje de 3,54 pts, cercano a lo normal (4,0 pts), mientras que T2, T3 y T4 presentan puntajes superiores (4,67 y 4,71 pts), ligeramente sobre lo normal.

En cuanto a adhesividad, la prueba estadística (W

de Kendall), indicó que no existe concordancia entre las respuestas de los panelistas en la apreciación de este parámetro sensorial.

En cohesividad, el tratamiento T1 es el que presenta mayor cohesividad con diferencias significativas ($p<0,05$) frente a los otros tratamientos.

La apreciación general, fue calificada con puntajes similares en los cuatro tratamientos, con valores entre 4,75 (T4, T2) y 5,08 (T1), en la escala usada, de valores extremos, 1 muy malo y 7 muy bueno.

DISCUSIÓN

Viabilidad de *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* durante maduración y comercialización.

Se ha señalado que la alta humedad y bajo contenido de sal en el centro del queso a inicios de maduración, permite la sobrevivencia de este probiótico en los primeros 7 días. Luego, en el transcurso de maduración, estas bacterias se estabilizan en el queso debido a la alta capacidad amortiguadora de su matriz, el relativamente alto contenido de grasa y lo compacto de la red proteica (9). La composición de la cuajada también es de gran importancia en el metabolismo de los microorganismos y, a pesar que en esta etapa ya no queda gran cantidad de lactosa, pues es utilizada principalmente durante el proceso de elaboración y en los primeros días de maduración, las bacterias probióticas poseen la enzima glicosidohidrolasa que les permite usar azúcares liberados por hidrólisis enzimática de la k-caseína y desde las glicoproteínas de la membrana del glóbulo graso (20). Durante este período, la fuente

TABLA 4
Calificaciones (*) otorgadas por los panelistas al sabor, perfil de textura y apreciación general de los quesos al término de maduración (21 días).

Tratamiento	Perfil de textura					Apreciación general $\bar{X} (\pm\sigma)$
	Sabor $\bar{X} (\pm\sigma)$	Firmeza $\bar{X} (\pm\sigma)$	Elasticidad $\bar{X} (\pm\sigma)$	Adhesividad $\bar{X} (\pm\sigma)$ (‡)	Cohesividad $\bar{X} (\pm\sigma)$	
T1	4,96 ± 0,52 ^a	2,79 ± 0,19 ^a	3,54 ± 1,79 ^a	4,96 ± 1,00	5,29 ± 0,48 ^b	5,08 ± 0,76 ^a
T2	4,04 ± 0,75 ^a	4,67 ± 0,50 ^b	4,67 ± 0,81 ^a	3,67 ± 1,23	3,67 ± 0,90 ^{ab}	4,75 ± 0,75 ^a
T3	3,38 ± 0,55 ^a	4,50 ± 0,33 ^b	4,71 ± 0,26 ^a	2,84 ± 0,57	3,13 ± 0,76 ^a	5,00 ± 0,22 ^a
T4	3,88 ± 0,58 ^a	5,09 ± 1,02 ^b	4,71 ± 0,44 ^a	3,05 ± 0,58	3,34 ± 0,59 ^a	4,75 ± 0,57 ^a
Puntaje Normal	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	6-7

* Promedio de 3 réplicas.

(‡) Adhesividad no presenta concordancia entre las respuesta de los panelistas.

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos, a un nivel de 95% de confianza.

potencial de energía son los metabolitos provenientes del accionar propio del cultivo iniciador típico de la variedad por hidrólisis de las proteínas y lípidos, de donde obtienen aminoácidos esenciales y ácidos grasos de cadena corta. También pueden utilizar como fuente de energía la arginina, generada por la degradación de la caseína, lo que se ha demostrado en el 45% de las cepas de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* (20).

Los recuentos del *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* durante maduración y comercialización del Gauda en estudio, probablemente se relacionan con el momento en que se agrega el cultivo probiótico durante el procesamiento, ya que en el tratamiento T3 la cepa fue incorporada en etapas iniciales, bajo condiciones favorables de acidez y temperatura y con tiempo para adaptación de éste a los tratamientos posteriores de proceso, mientras que en el caso de T4, fue agregado a fines de proceso (cocción de la cuajada), donde la acidez y la temperatura son menos favorables para su adaptación, lo que probablemente afecta su viabilidad, no obstante ambos tratamientos tuvieron recuentos sobre 10⁶ ufc/g, valor establecido para ser considerado un “alimento probiótico”. Resultados similares se reportaron en queso duro adicionado de *Lactobacillus paracasei*, a los 3 meses de maduración, con recuentos del orden de 10⁷ ufc/g (11). De igual forma, en queso Cheddar con cultivos *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus plantarum* se obtuvo valores máximos de 10⁸ ufc/g a los 2 meses de maduración, luego los valores comenzaron a disminuir hasta llegar a 10⁶ ufc/g a los 6 meses (20). En queso Cheddar con incorporación de cepas de *Lactobacillus paracasei* de origen humano, se obtuvo recuentos del orden de 10⁷ ufc/g a los 8 meses de maduración del queso (6).

Desarrollo de la proteólisis en Gauda chileno.

Los cultivos probióticos se encuentran dentro de la categoría de las BALNS (bacterias ácido lácticas no iniciadoras), cuyos sistemas van de bajo a medianamente proteolítico, por lo que generalmente no contribuyen mayormente a la proteólisis que es producida regularmente por el cultivo iniciador (20). En el caso del *Lactobacillus paracasei*, su contribución en la proteólisis de queso Cheddar se ha encontrado relativamente menor que la del cultivo iniciador, y en todo caso, se manifiesta más evidentemente en quesos de larga maduración (20). Cabe destacar que la actividad proteolítica de las bacterias probióticas depende de la

especie y cepa usada, dado que exhiben propiedades únicas en relación a su actividad enzimática, lo que además depende del período de maduración de cada variedad de queso, entre otros. En el presente estudio, respecto al tiempo de maduración, el análisis estadístico del contenido de tirosina, indicó que entre el día 0 y el día 21 existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en cada uno de los tratamientos, resultado esperado dados los procesos bioquímicos típicos de maduración derivados de la actividad de las bacterias iniciadoras, de sus enzimas y del remanente de enzima coagulante. Lo anterior indica que el proceso de proteólisis se comporta de manera regular y similar en todos los tratamientos, cuyos valores se asemejan a lo encontrado en otro queso semiduro chileno, el Chanco, donde el queso de grasa normal (sin probiótico) madurado por 15 y 30 días a 14°C, presentó valores de 0,279 y 0,348 mg de tirosina soluble por gramo de queso, respectivamente (21).

Cabe señalar, que todas las muestras de los tratamientos con reducción de grasa lograron una degradación proteolítica estadísticamente similar a la del queso de grasa normal, lo que probablemente influyó positivamente en las características sensoriales de los productos. Con relación al contenido graso, en queso Edam reducido en grasa, se han reportado mayores tasas de proteólisis frente a las muestras del testigo de grasa normal (22), situación no evidenciada en este estudio, lo que podría atribuirse al corto período de maduración que tiene el Gauda chileno (13), en relación al Edam holandés que se reporta.

Características físicas y químicas del Gauda chileno.

La tabla 3 muestra los resultados del estudio, donde se destaca la reducción de materia grasa en aproximadamente un 31% en los quesos semidescremados, tal como fue estipulado en la investigación, lo que también concuerda con las especificaciones de la Norma Chilena sobre el contenido graso en Gauda semidescremado (13). El contenido de humedad, sal y pH, parámetros claves de los procesos bioquímicos ocurridos en la maduración del queso, en particular de la proteólisis y consecuentemente sobre la calidad del producto, en el presente estudio cobran mayor relevancia porque podrían delimitar la viabilidad de los probióticos (23), en tal sentido, la concentración de sal en solución (sal en humedad), es determinante en la actividad de las bacterias lácticas ya que muchas se

inhiben con valores mayores a 6 g/100g (24). La Legislación chilena no ofrece especificaciones de contenido de sal para el queso Gauda ni para el Gauda semidescremado.

Comparando los resultados de sal de esta investigación con los encontrados en Gauda comercial chileno de grasa normal, entre 1,06 y 1,39g/100g (21), se observa que los quesos del estudio se encuentran ligeramente por debajo de éstos. Paralelamente, al expresar la sal, como contenido de sal en humedad de este estudio, se obtienen valores de sólo 1,61 a 2,11 g/100g, bastante por debajo de lo señalado riesgoso para el óptimo crecimiento de las bacterias del queso, consecuentemente no habría obtáculo por esta situación para la viabilidad de los probióticos en los quesos en estudio. El pH también es un factor crítico en la estabilidad de las bacterias probióticas (5), y el hecho que los quesos posean valores de pH sobre 5,0; como ha resultado en este estudio, indica que la condición de este parámetro no afecta la viabilidad de estos organismos tanto en maduración como en comercialización.

Características sensoriales de los quesos Gauda.

Los resultados mostraron sólo pequeña diferencia numérica entre tratamientos en los puntajes asignados al sabor, aunque tal diferencia no fue estadísticamente significativa. No obstante, en la percepción del sabor influye el nivel de grasa, ya que al producirse la lipólisis en los quesos se liberan ácidos grasos y sus catabolitos, los que actúan como fuentes del sabor, además, la grasa disuelve y absorbe la mayoría de los compuestos orgánicos del sabor, consecuentemente afecta la liberación de ellos durante el consumo del producto. Por el contrario, la reducción del contenido de materia grasa, al modificar la estructura física del queso, puede inhibir ciertas reacciones enzimáticas esenciales para el desarrollo del sabor (3, 25, 26). La formación del sabor en los quesos, no sólo se debe a la degradación de los lípidos, sino a las transformaciones de todos los componentes de la leche, donde las reacciones bioquímicas principales involucran la degradación de la lactosa, de los lípidos, las proteínas y los citratos, generando compuestos sápidos y aromáticos que proporcionan al queso el sabor típico de cada variedad (23).

En cuanto a los atributos de textura, existe consenso en que al disminuir el contenido de materia grasa aumenta la firmeza del queso, tal como ocurrió en este estudio, lo que podría explicarse por la disper-

sión de la grasa entre los agregados de caseína, lo que imparte suavidad al producto. Sin embargo, el glóbulo graso no interactúa con la red proteica, sino como un relleno inerte que separa físicamente los agregados de caseína, consecuentemente, al disminuir el contenido de materia grasa la proporción de caseína es más alta y las interacciones entre estas moléculas son más firmes y numerosas, por ende disminuye la suavidad y masticabilidad del queso, resultando más firmes que aquellos con toda su grasa (3, 27).

Paralelamente, varios investigadores concuerdan en que la elasticidad aumenta al reducir la grasa en el queso, por la mayor concentración en la matriz de caseína, de forma que los enlaces dentro y entre caseínas son más numerosos debido a lo cual el queso recupera más fácilmente su forma después de una compresión (24, 27). En este estudio la elasticidad no presentó diferencias significativas ($P > 0,05$) aunque numéricamente (concepto equivalente) T1 fue calificado con 3,54 ptos y con 4,67 a 4,71 en los tratamientos reducidos en grasa, por lo que se puede afirmar que aún sin que se manifiesten diferencias estadísticas, los panelistas fueron capaces de detectar que las muestras de estos tratamientos son ligeramente más “elásticas” que las del testigo.

La adhesividad resultó de un comportamiento errático, lo que podría ser consecuencia de que los panelistas se vieron imposibilitados de evaluar adecuadamente este atributo sensorial, probablemente por mayor complejidad en la evaluación de este parámetro, lo que quizás se podría superar con mayor entrenamiento del panel. Por lo anterior no es posible sacar una conclusión válida respecto a un posible efecto de las variables del estudio sobre la adhesividad. Sin embargo, se ha señalado que un alto contenido de proteína, como ocurre al reducir la grasa, provoca mayor compactación de la matriz proteica, y consecuentemente lo típico es que se pierda adhesividad (27).

Los resultados de la cohesividad presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre T1 y el resto de los tratamientos, lo que concuerda con lo expresado por ciertos autores, quienes encontraron similar situación en estudios con queso Mozzarella (25). La naturaleza de la matriz proteica y la cantidad y distribución de los glóbulos de grasa en ésta, afectan la cohesividad (23).

En cuanto a la apreciación general, los puntajes de los cuatro tratamientos son similares para este parámetro, lo que indica que las variables incorporadas en

este estudio, reducción del contenido de materia grasa y adición de cultivo probiótico, permitieron alcanzar la calidad general lograda en el queso Gauda con toda su grasa (T1 testigo), encontrándose todos los quesos cercanos al valor 5 como promedio, lo que corresponde al concepto “más que regular”, aunque ninguno de los tratamientos alcanzó el concepto de “bueno” (6 pts) ó, “muy bueno” (7 pts). La similitud en este atributo sensorial de los tratamientos con 31% de reducción de grasa frente al testigo, podría deberse al mayor nivel de humedad obtenido en tales quesos (T2 a T4), al rango de pH normal obtenido en ellos, y en consecuencia en el nivel desarrollado de proteólisis, que fue similar en todos los tratamientos.

En síntesis, la calidad sensorial del queso Gauda semidescremado con y sin agregado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, resultó adecuada y similar al del Gauda normal en grasa producido en este estudio, en términos de sabor (normal) y apreciación general (más que regular). Respecto a la textura, todos los quesos se presentaron similares en elasticidad, en cambio los reducidos en grasa fueron más firmes y menos cohesivos que el Gauda de grasa normal. Sin embargo, no hubo una respuesta definitiva sobre el comportamiento de la adhesividad en los quesos estudiados, por lo que es recomendable realizar nuevos estudios que permitan precisar y superar algunos atributos texturales de la variedad de queso desarrollado.

REFERENCIAS

- O'Brien N, O'Connor T. Nutritional aspects of cheese. In: Fox P, Mc Sweeney P, Cogan T, Guinee T., editors. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Londres: 3ª Ed. Elsevier; 2004. p. 573-581.
- Walther B, Schmid A, Sieber R, Wehrmüller K. Cheese in nutrition and health. Dairy Sci Technol. 2008; 88: 389-405.
- Banks J. The technology of low-fat cheese manufacture. Int J Dairy Tech. 2004; 57(4):199-207.
- Sanz Y, Collado MC, Dalmau J. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta Pediátrica Esp. 2003; 61(9): 476-482.
- De Vuyst L. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. Food Tech and Biotech. 2000; 38(2): 105-112.
- Gardiner G, Stanton C, Lynch PB, Collins JK, Fitzgerald G, Ross RP. Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. J Dairy Sci. 1999; 82(7): 1379-1387.
- Dinakar P, Mistry VV. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. J Dairy Sci. 1994; 77(10): 2854-2864.
- Obando M, Brito C, Schöbitz R, Baez LA, Horzella M. Viabilidad de los microorganismos probióticos *Lactobacillus casei* 01, *Lactobacillus acidophilus* La 5, *Bifidobacterium* BB12 durante el almacenamiento de queso Cottage. Vitae. 2010; 17(2): 141-148.
- Burns P, Patrignani F, Serrazanetti D. Probiotic Crescenza cheese containing *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* manufactured with high-pressure homogenized milk. J Dairy Sci. 2008; 91(2): 500-512.
- Kasimoğlu A, Göncüoğlu M, Akgün S. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. Int Dairy J. 2004; 14: 1067-1073.
- Kalavrouzioti I, Hatzikamari M, Litopoulou-tzanetaki E, Tzanetakis N. Production of hard cheese from caprine milk using two types of probiotic cultures as adjuncts. Int J Dairy Tech. 2005; 58(1): 30-38.
- Oliveira M, Brito C. Brined cheeses and analogues of Latin American origin. Chap.7. In: Tamime A., editor. Brined cheeses. Oxford: Blackwell Publishing; 2006. p. 211 - 248.
- Chile. Instituto Nacional de Normalización, INN. Productos lácteos. Queso Gauda. Requisitos. Norma Chilena 2478. Santiago: Instituto Nacional de Normalización de Chile; 1999.
- Chile. Ministerio de Agricultura. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. ODEPA. Situación del mercado del queso en Chile. Santiago: Ministerio de Agricultura de Chile; 2005.
- American Public Health Association. APHA. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. Washington. DC: APHA; 1992.
- Samples D, Richter R, Dill C. Measuring Proteolysis in Cheddar Cheese Slurries: Comparison of Hull and Trinitrobenzene Sulfonic Acid. Procedures. J Dairy Sci. 1984; 67: 60-63.
- Pinto M, Vega y León, S, Pérez N. Métodos de Análisis de la Leche y Derivados. Valdivia. Chile: Imprenta Universitaria, S A; 1998.
- Chile. Instituto Nacional de Normalización, INN. Leche y productos lácteos. Determinación de pH. Norma Chilena 1671. Santiago: Instituto Nacional de Normalización de Chile; 1979.
- Carpenter R, Lyon D, Hastell T. Guidelines for sensory analysis in food product development and quality control. Maryland: 2º Ed. Aspen; 2000.
- Lynch C, Muir D, Banks J, Mc Sweeney P, Fox P. Influence of adjunct cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus plantarum* on Cheddar

- cheese ripening. *J Dairy Sci.* 1999; 82 (8): 1618-1628.
21. Brito C, Morales O, Pinto M, Molina LH, Pessot R. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo Campo almacenado a altas temperaturas. II. Proteólisis. *Agrosur.* 1996; 24(1): 1-13.
 22. Tungjaroenchai W, Drake M, White C. Influence of adjunct cultures on ripening of reduced fat Edam cheeses. *J Dairy Sci.* 2001; 84(10): 2117-2124.
 23. Fox PF, Cogan T. Factors that affect the quality of cheese. IN: Fox P, Mc Sweeney P, Cogan T, Guinee T., editors. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.* London: Elsevier; 2004. p. 583-608.
 24. Agarwal S, Powers JR, Swanson BG. Influence of salt - to - moisture ratio on starter culture and calcium lactate cristal formation. *J Dairy Sci.* 2008; 91(8): 2967-2980.
 25. Ben Lawlor J, Delahunty C, Wilkinson M, Sheehan J. Relationships between the sensory characteristics, neutral volatile composition and gross composition of ten cheese varieties. *Lait.* 2001; 81: 487-507.
 26. Brito C, Uribe P, Molina LH, Molina I, Pinto M. Production of low-fat Chanco cheese using homogenized milk and adjunct lactic culture. *Int J Dairy Tech.* 2006; 59(4): 242-249.
 27. Gwartney E, Foegeding E, Larick D. The texture of commercial full-fat and reduced-fat cheese. *J Food Sci.* 2002; 67(2): 812-816.

Recibido: 21-01-2011

Aceptado: 20-09-2011