

INFLUENCIA DE LA BACTERIA *Pseudomonas fluorescens* EN LA LECHE, SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL QUESO DOBLE CREMA

González SJ¹, López NC², Novoa CF³, Restrepo LP⁴

Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue observar el efecto de la presencia de microorganismos psicrotróficos en la leche, sobre las características sensoriales del queso doble crema. Para esto, se inoculó la leche con un cultivo de *Pseudomonas fluorescens*, a un nivel de 10⁸ unidades formadoras de colonia por mililitro (ufc/ml). La leche se refrigeró a 4 °C por seis días, se pasteurizó y posteriormente se preparó el queso. Se elaboraron lotes de queso cada 10 días, con el fin de obtener siete tiempos experimentales. A cada uno se le determinó la vida útil sensorial.

Los resultados de las pruebas sensoriales se analizaron con el programa S-PLUS de estadística de supervivencia aplicada a la vida útil sensorial de alimentos. Se determinó que el tiempo de vida útil sensorial del queso doble crema elaborado con leche en estas condiciones, y almacenado a 4 °C, está alrededor de 30 días, disminuyendo en un 50% con relación al patrón.

Palabras clave: psicrotróficos, queso, características sensoriales, *Pseudomonas fluorescens*, vida útil sensorial.

EFFECT OF THE BACTERIA *Pseudomonas fluorescens* IN MILK, ON THE SENSORY CHARACTERISTICS OF COLOMBIAN CHEESE “DOUBLE CREAM”

ABSTRACT

The achievement of this work was to observe which is the effect of the presence of psychotropic microorganisms in the milk, on the sensory characteristics of the Colombian cheese “doble crema”. To perform this, the milk was inoculated with a culture of *Pseudomonas fluorescens*, at a level of 10⁸ units of colony former per milliliter (ucf/ml). The milk was refrigerated at 4 °C by six days, then it was pasteurized and finally the cheese was made. Portions of cheese were made each 10 days, to obtain seven experimental times. Each portion was determined its sensory shell life.

The results of the sensory tests were analyzed by the program S-PLUS, a program of survival statistics applied to the sensory shelf life of food. It could be determined that the time of sensory shelf life for the double cream cheese, made with milk at those conditions and stored at 4 °C, is about 30 days, lowering in about 50% in relation to the control.

Key words: Psychotropic, cheese, *Pseudomonas fluorescens*, sensory characteristics, chemical characteristics, sensory shelf life.

1 sgonzalezb@unal.edu.co

2 nclopezo@unal.edu.co

3 cfnovoac@unal.edu.co

4 lprestrepos@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

De todos los tratamientos conocidos para reducir el desarrollo de microorganismos en la leche cruda el más utilizado es el descenso de la temperatura; sin embargo, los microorganismos psicrótrofos se han reconocido como un problema recurrente en el almacenamiento, la refrigeración y la distribución de la leche y otros productos lácteos perecederos, debido a que crecen fácilmente a bajas temperaturas. Alrededor del año 1960, se propuso el término psicrótrofo para designar a aquellos microorganismos que son capaces de crecer a temperaturas comprendidas entre los 0 y 7 °C, y producir colonias visibles o turbidez, en un tiempo menor a 10 días, aunque su temperatura óptima de crecimiento es mayor (1).

El principal representante de la flora psicrotrofica de la leche es *Pseudomonas fluorescens*, más del 50% de la flora Gram negativa de la leche cruda está representada por este género. Además, se ha descrito que algunas de sus enzimas resisten temperaturas por encima de los 80 °C, por lo cual pueden causar alteraciones aun en productos elaborados con leches pasteurizadas (2).

Aunque los microorganismos pueden ser finalmente destruidos, no sucede lo mismo con sus enzimas, pudiendo actuar con posterioridad a los tratamientos térmicos. Esto provoca grandes problemas a la industria láctea, en especial a aquellas dedicadas a la esterilización comercial de leche y productos lácteos, ya que las enzimas resistentes al tratamiento térmico disponen de largos periodos para actuar. Por ejemplo, las proteinasas liberadas producen alteraciones como deterioro de las caseínas en la leche fresca, problemas de gelificación de leche larga vida, sabores amargos y disminución del rendimiento en productos lácteos (3).

Los defectos más comúnmente observados son el sabor frutal y amargo, los sabo-

res pútridos, rancios, a papa, jabonosos y a pescado, que son asociados con proteólisis y lipólisis. Los sabores amargos y pútridos usualmente se acompañan de la degradación de la proteína a péptidos y su posterior transformación en aminoácidos; los sabores jabonosos y rancios son el resultado de la ruptura de los lípidos en numerosos ácidos grasos como butírico, caproico, caprílico, cáprico y laúrico (3).

El presente estudio evaluó las propiedades sensoriales a través del tiempo de un producto lácteo de alto consumo en Colombia, como lo es el queso doble crema, cuando las condiciones de manejo de la leche, previas a la elaboración del queso, han favorecido el desarrollo de flora psicrotrofa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó leche cruda fresca del hato Marengo de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, con animales de la raza Holstein; se caracterizó según los requerimientos de la reglamentación colombiana (5) aplicando la metodología establecida por la Association of Analytical Chemistry (AOAC) (6). La leche fue sometida a pasteurización rápida a 71 °C durante 15 segundos con el fin de destruir la mayor parte de la flora contaminante inicial de la leche. Para verificar la efectividad de este tratamiento se realizó recuento en placa de microorganismos psicrotrofos en agar *plate count*, según método recomendado por la International Dairy Federation (7).

Inoculación de la leche. Se empleó un inóculo con la bacteria *Pseudomonas fluorescens* obtenida y caracterizada en el Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIMIC) de la Universidad de los Andes de Bogotá, hasta lograr un recuento de 10^8 ufc/ml, cuantificados mediante recuento en placa. La leche inoculada se refrigeró a 4 °C por 6 días. La leche no inoculada (control) se refrigeró en iguales condiciones. Ambos

lotes de leche se pasteurizaron nuevamente, antes de preparar el queso.

Elaboración del queso doble crema. Se siguió el procedimiento sugerido por Rodríguez y Novoa (8). Al producto terminado se le realizaron los análisis microbiológicos.

Determinación de la vida útil sensorial del queso doble crema. Cada lote se empacó al vacío en polietileno de baja densidad, y se almacenó a 4 °C hasta efectuar el ensayo. Los tiempos experimentales para la evaluación de la vida útil sensorial fueron: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 días de almacenamiento, se eligieron estos tiempos teniendo como parámetro la fecha de vencimiento del queso comercial, que se encuentra alrededor de los 60 días. En el control se considera el queso evaluado al día cero de almacenamiento. Se aplicó un diseño escalonado. Se conformó un panel de consumidores que realizó pruebas de aceptabilidad/rechazo sobre las muestras presentadas simultáneamente. Estas pruebas se realizaron con 80 consumidores habituales de queso (con mínimo una vez de consumo a la semana), seleccionados entre el personal que trabaja y estudia en la Universidad Nacional, para evaluar la aceptabilidad de las muestras de queso. Se aplicó la prueba descriptiva de puntajes con la colaboración de 9 panelistas entrenados. Las características que se debían evaluar fueron: apariencia-color, aroma-sabor y textura.

Análisis estadístico de resultados. Se aplicó el software S-PLUS (9), el cual estima la probabilidad de aceptación del alimento. La aceptación del producto se analizó en función del tiempo de almacenamiento. Los datos obtenidos con el panel analítico se analizaron por el método no paramétrico de Friedman (10).

RESULTADOS

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL QUESO DOBLE CREMA AL FINAL DEL ALMACENAMIENTO

Debido a que la leche fue sometida a pasteurización antes de la elaboración del queso, y a que la higiene y asepsia utilizadas durante el desarrollo del estudio fueron adecuadas, los recuentos de coliformes y psicrótrofos se encontraron dentro de la norma (<3 ufc/g y <10ufc/g, respectivamente). Estos resultados garantizaron la protección de los panelistas al consumir el alimento.

ANÁLISIS SENSORIAL DEL QUESO DOBLE CREMA

Evaluación sensorial con el panel entrenado. La Figura 1 presenta los resultados obtenidos en la evaluación de la calidad sensorial del queso doble crema con el panel entrenado, a los 30 y 40 días de almacenamiento, donde se presentó la diferencia estadística significativa (P<0,05) en las calificaciones dadas por los panelistas entrenados.

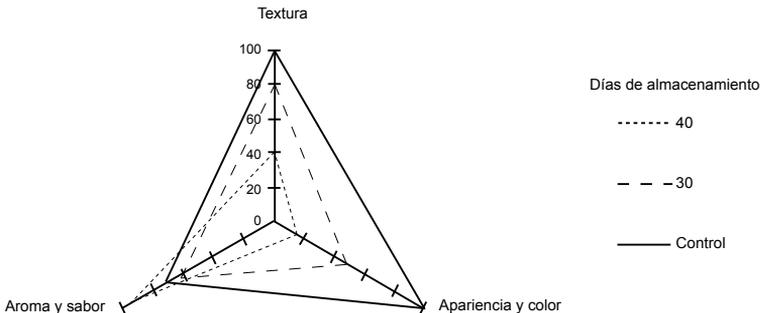


Figura 1. Perfil sensorial del queso doble crema elaborado con leche inoculada. Determinación de la vida útil sensorial con consumidores

En las figuras 2 y 3 se presentan los resultados obtenidos a través del programa S-PLUS

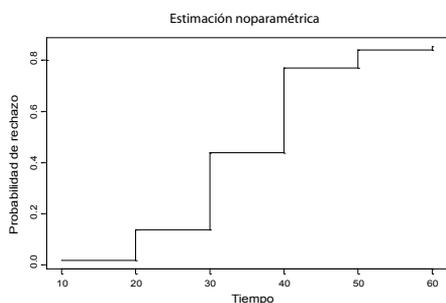


Figura 2. Porcentaje de rechazo del queso doble crema según el tiempo de almacenamiento

En la Tabla 1 y en la Figura 3, se observan los resultados del porcentaje de población que rechazaría una muestra con un 95% de probabilidad, en un tiempo de almacenamiento determinado (estimado).

Tabla 1. Probabilidades de rechazo

Día	Porcentaje	Error	L.I.	L.S.
30	0,37	0,22	0,27	0,47
35	0,48	0,20	0,39	0,58
40	0,58	0,20	0,48	0,67
45	0,67	0,22	0,56	0,75
50	0,74	0,25	0,63	0,82

L.I. = Límite Inferior del Estimado

L.S. = Límite Superior del Estimado

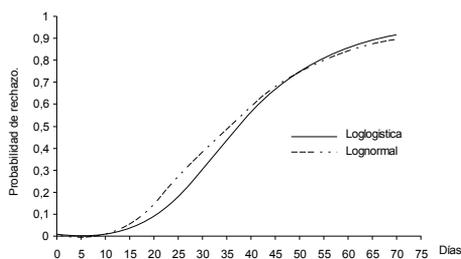


Figura 3. Función de rechazo contra el tiempo de almacenamiento

DISCUSIÓN

ANÁLISIS SENSORIAL DEL QUESO DOBLE CREMA

Evaluación sensorial con el panel entrenado. En términos generales, a partir del día 30 de almacenamiento se observa disminución en la calidad sensorial en la apariencia y en la textura. En un estudio presentado por Novoa (13), en el cual se comparó la dureza instrumental del queso doble crema elaborado con leche control y leche inoculada con bacterias psicrotróficas, se encontró disminución del grado de dureza. Debido a estos resultados, podría sugerirse entonces que las características de apariencia y textura son los descriptores críticos del queso doble crema.

Se esperaba que la calidad sensorial del aroma y el sabor disminuyera al mismo tiempo que las otras propiedades sensoriales, e incluso antes, pues según Torrie *et al.* (14), la actividad proteolítica y lipolítica de las bacterias psicrotróficas contribuye al sabor rancio de la leche; sin embargo, el panel sensorial no detectó aromas y sabores que bajaran el puntaje de los factores de calidad del queso doble crema antes del día 30 de almacenamiento.

Determinación de la vida útil sensorial con consumidores. La duración de la vida útil de la leche y sus subproductos refrigerados está limitada por el crecimiento y la actividad bioquímica de los microorganismos. El uso de métodos de conservación en frío permite la selección natural de una flora psicrotrófica, que en condiciones naturales constituye menos del 10% de la población microbiana mesófila, mientras que bajo condiciones de frío, en 48 horas sus niveles pueden alcanzar el 70% de la población total por efectos de selección. Entre esta flora se encuentran microorganismos como la *P. fluorescens*, productora de enzimas con actividad proteolítica y lipolítica, capaces de deteriorar la leche a temperaturas de 5 °C. (15).

Villar (16) se señala que existe una alta correlación inversa entre el recuento de psicrótrofos en la leche, y la vida útil de sus productos. En la leche, la proteólisis puede causar principalmente dos problemas: un decrecimiento en el rendimiento quesero, y un deterioro en la composición y calidad del queso, presentándose sabores amargos en los productos (17). Estos reportes fueron corroborados en la prueba de aceptación con consumidores, donde se empezó a presentar rechazo por sabores desagradables, después de 30 y 40 días de almacenamiento (Figura 2).

De manera global, hay una alta aceptación de consumo por los lotes correspondientes al control, con 10 y 20 días de almacenamiento, así como también es claro el rechazo de consumo por los lotes correspondientes a 50, 60 y 70 días de almacenamiento; en los lotes de 30 y 40 días de almacenamiento se refleja un estado de transición, donde el umbral de percepción y desagrado juega un papel importante en la decisión de consumo.

En el programa estadístico S-Plus, el análisis de supervivencia está definido como la probabilidad de que un individuo acepte un alimento después del tiempo t ; de manera que luego del tratamiento y análisis de los datos, la variable respuesta que arroja es un rango de tiempo durante el cual, con una alta probabilidad, un porcentaje de la población puede rechazar un producto; lo que interesa es conocer el tiempo en el que el producto es rechazado por parte del consumidor.

Con base en estos resultados se calculó el porcentaje de rechazo del producto por parte de los consumidores, con el 95% de probabilidad para los días comprendidos en el rango de los 30 a los 45 días, obteniendo que la mitad de la población se sobrepasa en el día 40, hecho que define el tiempo máximo de vida útil sensorial del queso doble crema elaborado a partir de leche inoculada y alterada por bacterias psicrótróficas, donde las

características sensoriales no cumplen con los requerimientos de los consumidores.

CONCLUSIONES

Se evidenció el efecto de niveles de 10^8 ufc/ml de microorganismos psicrótróficos en la leche almacenada por 6 días a 4 °C, sobre las características sensoriales del queso doble crema.

Los resultados de este estudio refuerzan la necesidad de procesar rápidamente la leche y, en lo posible, no dejarla durante mucho tiempo en los tanques refrigerados, como sucede a menudo en el transporte y almacenamiento de la leche.

En este trabajo se determinó que el tiempo de vida útil sensorial del queso doble crema elaborado con leche inoculada a un nivel de 10^8 ufc/ml de *Pseudomonas fluorescens*, y almacenada a 4 °C, disminuye de 60 a 30 días.

Los principales defectos producidos por *Pseudomonas fluorescens* en el queso doble crema se presentan en la apariencia y en la textura, la cual se torna muy blanda y muy seca.

Aunque en el mercado nacional la vida útil sensorial comúnmente asignada al queso doble crema no excede los 45 días, es importante tener en cuenta los posibles cambios que se presenten posteriormente a esta fecha.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por el uso de las instalaciones y los equipos en los cuales se llevó a cabo la investigación, y al Programa Interfacultades: Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos, por suministrarnos las materias primas y los reactivos.

REFERENCIAS

1. James J. Microbiología moderna de los alimentos. Zaragoza: Acribia; 1994.
2. Costa M. Purificación y caracterización de proteasas de *Pseudomonas fluorescens* y sus efectos sobre las proteínas de la leche. Archivos Latinoamericanos de Nutrición; 2 (2); 2002.
3. Fajardo C, Nielsen S. Effect of psychrotrophic microorganisms on the plasmin system in milk. J Dairy Sci; 81:901-908; 1998.
4. López H. Influencia de la presencia de microorganismos psicrófilos de la leche en la calidad de dos tipos de quesos colombianos. Trabajo Final, Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia; 2003.
5. Colombia, Decreto 616 de 2006, Ministerio de la Protección Social.
6. Association of Analytical Chemistry, AOAC. Official Methods of Analysis. 15 ed.; 1990.
7. Internacional Dairy Federation. Determinación de bacterias psicrófilas en leche. Método 101 A.; 1991.
8. Rodríguez A, Novoa C. Guía de elaboración de quesos colombianos. Suplemento ganadero. Bogotá: Banco Ganadero, 1995.
9. Garitta L, Gómez G, Hough G, Langohr K, Serrat C. Estadística de supervivencia aplicada a la vida útil sensorial de alimentos. Tutorial introductorio y cálculos a realizar utilizando S-PLUS. España: CYTED; 2004.
10. Conover WJ. Practical nonparametric statistics. 2 ed. New York: John Wiley and Sons; 1980.
11. Alais C. Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. 2 ed. Barcelona; 1985.
12. Law R. Reviews of the progress of dairy science. Enzymes of psychrotropic bacteria and their effects on milk and milk products. J Dairy Sci; (46):573-588; 1979.
13. Novoa C. Actividad proteolítica de bacterias psicrófilas y su influencia en la calidad de la leche como materia prima en la elaboración de quesos. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química; 2006.
14. Torrie J, Cholette H, Froehlich D, Mckellar R. Growth of an extracellular proteinase-deficient strain of *Pseudomonas fluorescens* on milk and milk proteins. J Dairy Res; 50 (3):365-374; 1983.
15. Viejo J, Falcao O, Bermúdez J, Reginensi S. Efecto de enzimas proteolíticas producidas por bacterias psicrófilas del género *Pseudomonas fluorescens* en leche. Tecnología Láctea Latinoamericana; 24:60-62; 2001.
16. Villar A. Application of principal component analysis to the study of microbial populations in refrigerated raw milk from farms. J International Dairy; 6:937-945; 1996.
17. Guerrero L, Román S, Pacheco L. Proteólisis de la leche cruda almacenada en frío: efecto de las enzimas proteolíticas sobre la integridad de las caseínas. Revista Científica. FVC-LUZ; 13 (3):187-192; 2003.

Recibido ??-??-?? y aprobado 14-12-07