

CONCLUSIONES



En el presente trabajo se desarrolló una nueva variedad de queso probiótico, hasta la actualidad inexistente en el mercado local. Se obtuvieron quesos tipo Pategrás con altas poblaciones de siete bacterias probióticas en forma individual y de un fermento probiótico mixto. Todas las cepas ensayadas permanecieron, durante todo el período de maduración estudiado, en concentraciones mayores al nivel sugerido para un alimento probiótico. Las cepas del grupo de *L. casei* (*L. paracasei*, *L. casei* y *L. rhamnosus*) fueron las que demostraron la mayor resistencia en el medio ambiente del queso, seguidas de las cepas de *L. acidophilus*, y finalmente de la cepa de *B. lactis*.

Los quesos probióticos mantuvieron una composición similar a la del queso tradicional. Algunos de los quesos probióticos fueron más ácidos que los quesos testigos, lo que se consideró una influencia negativa, ya que una mayor acidificación puede afectar el *flavour* y la textura del producto, y por ende la aceptación por parte del consumidor. Sin embargo, solamente uno de los fermentos probióticos originó diferencias que persistieron hasta el final de la maduración, mientras que otros dos generaron una acidez inicial más elevada, pero esta característica desapareció luego de algunos días.

A pesar de detectarse incrementos de la viabilidad probiótica durante la preincubación en un sustrato lácteo graso, esta preparación previa y el mayor inóculo real a los quesos no generó una mayor concentración probiótica en los quesos. De esta manera, se verificó que el agregado directamente en forma liofilizada fue más eficiente, por diversas razones: i) se obtuvieron similares concentraciones, ii) la metodología directa fue más rápida y sencilla, iii) la preincubación involucra un mayor manipuleo, con un consiguiente incremento de la posibilidad de infecciones fágicas, y iv) en algunos ensayos, se produjo una mayor acidificación en los quesos con probióticos agregados luego de la preincubación. De este modo, se demostró que es posible inocular directamente las bacterias probióticas a la leche, sin modificaciones tecnológicas de elaboración, y al mismo tiempo obtener una alta concentración probiótica en los quesos. Estas características son importantes desde el punto de vista de la producción industrial de este tipo de quesos.

En general, no se manifestaron interacciones significativas entre los distintos fermentos incorporados al queso. Una excepción lo constituye la preparación del sustrato lácteo graso con el fermento probiótico mixto, donde se observaron diferentes incrementos en la población de cada cepa según las distintas relaciones de inóculos de las mismas.

En algunos de los ensayos, se comprobó que la utilización de un inóculo menor que el propuesto inicialmente fue beneficiosa, debido a que se verificó una menor acidificación en el sustrato lácteo graso, las concentraciones alcanzadas fueron adecuadas, y evidentemente se disminuyeron los costos de fermentos probióticos. Identificar la dosis óptima de fermento probiótico constituye una continuación interesante del presente trabajo.

Ninguno de los fermentos probióticos ensayados demostró una contribución significativa a la proteólisis primaria, evidenciando una actividad proteolítica sobre las caseínas intactas muy baja o nula en la matriz alimentaria estudiada. Por el contrario, las distintas cepas de lactobacilos ensayadas manifestaron un impacto significativo en los diferentes índices de proteólisis secundaria. La influencia detectada fue dependiente de la especie y cepa y, en algunos casos, también dependió de la metodología de adición del fermento probiótico. La contribución de las cepas de *L. acidophilus* fue notablemente más marcada que la de las cepas del grupo de *L. casei*, demostrando incremento en la cantidad de péptidos pequeños, aminoácidos libres y totales, y modificaciones del perfil peptídico desde el inicio de la maduración. Estos resultados sugieren que dichas cepas poseen un amplio rango de peptidasas, las cuales demostraron una gran actividad en el medio ambiente del queso Pategrás. La influencia en la proteólisis secundaria de los quesos ocasionada por el fermento probiótico mixto, que incluía las cepas *L. acidophilus* C, *L. paracasei* y *B. lactis*, fue producida por la cepa de *L. acidophilus*. Esta afirmación se fundamenta en el hecho de que las otras dos cepas constituyentes del fermento mixto no tuvieron un impacto significativo cuando fueron utilizadas en forma individual, y en que los resultados de los ensayos con *L. acidophilus* C y con el fermento mixto resultaron prácticamente idénticos.

La metodología de adición del fermento probiótico, si bien, en general, no produjo diferencias en la viabilidad probiótica, demostró cierto impacto en la expresión bioquímica de *L. acidophilus* C, tanto cuando fue utilizada en forma individual como en el fermento probiótico mixto. En estos ensayos, el fermento mostró mayor influencia en los diferentes índices de proteólisis secundaria cuando fue agregado luego de una preincubación, sugiriendo una influencia del medio de crecimiento o del estado fisiológico celular sobre la actividad de las endo y exopeptidasas de dicha cepa. En todos los demás ensayos en los que se detectó una contribución del fermento probiótico a la proteólisis, la misma fue similar entre ambos quesos experimentales.

Entre las cepas del grupo de *L. casei*, *L. casei* demostró una mayor contribución al proceso proteolítico del queso que las cepas de *L. paracasei* y *L. rhamnosus*, sugiriendo una mayor cantidad de peptidasas o una actividad incrementada de las mismas en el medio ambiente del queso, con respecto a las otras dos cepas.

Finalmente, la cepa de *B. lactis* ensayada no demostró ninguna influencia en el proceso de proteólisis del queso Pategrás.

Algunas de las cepas estudiadas en este trabajo fueron caracterizadas como adjuntos probióticos en otros modelos de queso. Si bien se confirmaron muchas de las tendencias observadas en dichos estudios, otros resultados indican que tanto la viabilidad probiótica como la expresión bioquímica de los fermentos fueron afectadas por el tipo de matriz alimentaria en que se agregaron, lo que enfatiza la necesidad de ensayar cada nueva combinación probiótico-alimento cuando se diseñan productos funcionales.

La proteólisis tiene gran influencia en las características organolépticas del queso ya que las afecta directa e indirectamente, a través de la producción de compuestos sápidos y numerosos precursores de sabor y aroma. Las cepas de *L. paracasei*, *L. rhamnosus* y *B. lactis*, que generaron un leve o nulo impacto en la proteólisis, aparecen como las más adecuadas para la obtención de quesos Pategrás similares al producto convencional. Las cepas de *L. acidophilus* y de *L. casei*, que incrementaron el nivel de compuestos nitrogenados pequeños y aminoácidos libres mediante su actividad peptidolítica, resultan aún más atractivas, porque podrían contribuir a la aceleración de la maduración o intensificar el *flavour* del producto. Sin embargo, se deberían realizar estudios sensoriales e indagar sobre la capacidad de estas cepas para la transformación de los aminoácidos a los fines de verificar esta potencialidad.

En los últimos tiempos, se ha detectado una gran expansión del rango de productos probióticos disponibles en el mercado local, correspondiendo principalmente a productos lácteos fluidos. Actualmente, existe únicamente un queso probiótico en el mercado nacional, que es un queso fresco. Esta tesis ha contribuido al desarrollo de una nueva variedad de queso probiótico, que se ha caracterizado exhaustivamente, desde el punto de vista del mantenimiento de la viabilidad probiótica y del impacto de este tipo de cultivos en la proteólisis.