

# Caracterización fisicoquímica de quesos de leche de oveja uruguayos



AUTORES: LUCÍA MACEIRAS<sup>(1)</sup>; FLORENCIA ERRAMOUSPE<sup>(1)</sup>; LUCÍA NÓGUES<sup>(1)</sup>; NICOLÁS CALLEJAS<sup>(1)</sup>; BRUNO IRIGARAY<sup>(2)</sup>; MARÍA A. GROMPONE<sup>(2)</sup>; ADRIANA GÁMBARO<sup>(3)</sup>; IGNACIO VIEITEZ<sup>(1)\*</sup>  
E-mail: ivieitez@fq.edu.uy

<sup>(1)</sup> Área Tecnología de Alimentos, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de la República. Gral. Flores 2124, C.P. 11800, Montevideo, Uruguay.

<sup>(2)</sup> Área Grasas y Aceites, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de la República. Gral. Flores 2124, C.P. 11800, Montevideo, Uruguay.

<sup>(3)</sup> Área Evaluación Sensorial, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad de la República. Gral. Flores 2124, C.P. 11800, Montevideo, Uruguay.

Trabajo original preparado especialmente para A&G.

## Resumen / Abstract

La producción de quesos de leche ovina es una actividad poco desarrollada en Uruguay y carece de una tradición productiva e industrial, pero en los últimos años ha tenido un crecimiento. La leche de oveja posee mayor contenido de sólidos totales y de nutrientes que la leche de vaca, compuestos que pasan a los quesos durante su elaboración.

Todos los quesos de leche de oveja uruguayos presentaron altos contenidos de ácidos trans-vaccénico (TVA) y linoleico conjugado (CLA), ácidos grasos benéficos para la salud, con valores superiores a los de los quesos importados estudiados. La determinación de la composición en triglicéridos (TAG) puede ser una herramienta útil para detectar si un queso elaborado con leche de oveja está adulterado con leche de vaca.

Los quesos de mayor contenido de ácidos grasos libres (AGL) cortos fueron los que presentaron períodos prolongados de maduración. En todos los quesos, el contenido mayoritario de AGL correspondió a los ácidos grasos de cadena media y larga (de 12:0 a 18:2). Para los ácidos orgánicos (AO) se observó que su contenido es mayor al aumentar el tiempo de maduración de los quesos. De los AO, el contenido de ácido láctico fue el más alto encontrado en la mayoría de los quesos analizados.

*Ewe milk cheese production is an underdeveloped field in Uruguay and it lacks productive and industrial tradition, but in recent year it has been growing. Ewe milk has a higher content of total solids and nutrients than cow's milk, those compounds pass to cheeses during their production.*

*Uruguayan ewe milk cheeses showed high levels of trans-vaccenic (TVA) and conjugated linoleic acid (CLA), fatty acids that benefit health, with higher values than those of imported cheeses. Triglycerides (TAG) composition can be useful for detecting whether a cheese made from ewe's milk is adulterated with cow's milk or not.*

*Cheeses with longer ripening periods had higher content of short free fatty acids (FFA). In all cheeses, the major content of FFA corresponded to fatty acids of medium and long chain (12:0 -18:2). Organic acids (OA) content is greater with increasing ripening time. Lactic acid content was the highest of all OA analyzed.*

## Palabras claves / Key words

Quesos de leche de oveja; ácidos grasos; triglicéridos; lipólisis; ácidos grasos libres; ácidos orgánicos.

*Ewe milk cheeses; fatty acids composition; CLA; triglycerides; lipolysis; free fatty acids; organics acids.*

## • Introducción

El mercado de quesos en Uruguay actualmente está cubierto mayoritariamente por los elaborados con leche de vaca. Existen pocas marcas de quesos de leche de oveja en el mercado, siendo su producción principalmente artesanal y zafral, lo que genera poco conocimiento por parte de los consumidores. Además, este tipo de alimentos sufre prejuicios, tanto culturales como sensoriales, debido a sus sabores intensos, repercutiendo esto en la aceptación de los consumidores.

Sin embargo, la leche de oveja posee mayor contenido de sólidos totales y de nutrientes que la leche de vaca, compuestos que pasan a los quesos durante su elaboración. La grasa de la leche de rumiantes posee aproximadamente 64 ácidos grasos de diferentes longitudes de cadena que comprenden desde C4 hasta C26; de éstos, casi la tercera parte de los ácidos grasos se encuentra en proporciones inferiores al 0,1 %. En la grasa de la leche de rumiantes es de interés destacar la presencia y el contenido de ácidos grasos *trans* naturales, debido al efecto benéfico que éstos tienen sobre la salud, en contraposición con la de los ácidos grasos *trans* de origen industrial que presentan reconocidos efectos negativos (Juárez *et al.*, 2010). El ácido *trans*-vaccénico (TVA) y el ácido linoleico conjugado (CLA) se forman como consecuencia de la biohidrogenación de los lípidos en el rumen. El CLA está constituido en más de un 70 % por el ácido graso *cis*-9, *trans*-11 18:2, llamado también ácido ruménico (Juárez *et al.*, 2010). La importancia del CLA radica en sus efectos anticarcinogénicos, hipocolesterolémicos, antioxidantes, mejorador del sistema inmune y reductor del peso corporal. Además, es importante el estudio de la composición de los triglicéridos (TAG) de la grasa de leche a los efectos de su caracterización. Es posible separar los TAGs por HPLC en base a su longitud de cadena, su número de insaturaciones, su polaridad y su configuración. Hasta ahora son escasos los estu-

dios sobre la composición lipídica de las grasas obtenidas de quesos de ovejas de origen uruguayo. Esto es de interés porque existen diferencias con otros países productores de mayor tradición respecto tanto a los procedimientos de elaboración de los quesos como cuando se comparan las razas lecheras, los sistemas de confinamiento con los sistemas de pastoreo de las ovejas y las diferencias en su alimentación. Para la leche de vaca, los sistemas de producción basados en pasturas naturales influyen fuertemente en la composición de los ácidos grasos provocando un aumento en los porcentajes de ácidos grasos poli-insaturados (PUFA) y CLA. Por estos motivos, resulta interesante la caracterización de los quesos elaborados con leche de oveja desde el punto de vista de su composición en ácidos grasos (particularmente CLA y TVA) y de sus TAGs. También es importante el conocimiento del perfil de TAG de la grasa de leche de oveja a los efectos de su caracterización, ya que éste difiere del de la grasa de leche de vaca.

Adicionalmente, durante la maduración de los quesos, la lipólisis es una de las reacciones bioquímicas que afecta sustancialmente a sus propiedades sensoriales. Durante la misma, los TAGs son hidrolizados por enzimas lipolíticas (lipasas y esterasas), generando monoacilgliceroles (MAG) y diacilgliceroles (DAG), además de ácidos grasos libres (AGL). Las enzimas lipolíticas pueden provenir de diversas fuentes como de la leche no pasteurizada, de la pasta del cuajo, de cultivos iniciadores y no iniciadores adicionados (microorganismos) y de otros agregados en la elaboración del queso (Estrada *et al.*, 2007). La composición en AGL en un queso debería ser similar a los de la leche de partida si se liberaran por una hidrólisis no selectiva de sus triglicéridos. Sin embargo, pueden existir diferencias en el perfil de los ácidos grasos hidrolizados durante el proceso de maduración de los quesos debido a la selectividad de algunas de las enzimas lipolíticas presentes. Por todos estos motivos resulta interesante el estudio del contenido total y de

la composición de AGL de los quesos de oveja de elaboración uruguayos comparados con el perfil de los ácidos grasos de la propia grasa del queso. Esta comparación puede aportar cierta información acerca de las características de la lipólisis que tuvo lugar durante la elaboración y/o maduración del queso. También, puede ser interesante comparar estos valores con los de los quesos importados de países donde el mercado de dicho producto está más desarrollado y las condiciones de elaboración son diferentes.

El flavor de un queso es el resultado de la presencia de diferentes compuestos formados por una serie de reacciones bioquímicas que se producen en la cuajada durante la maduración, debido a la acción de microorganismos iniciadores agregados, enzimas propias de la leche (no pasteurizada), enzimas del cuajo utilizado, etc. En esas reacciones enzimáticas de naturaleza proteolítica, lipolítica, fermentativa y por otras vías bioquímicas son degradados componentes originales de la leche tales como, las proteínas, la lactosa y la grasa, dando lugar a agentes del flavor muy diversos: AGL, ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes, aminas y sulfuro de hidrógeno entre otros (Sánchez-Ponte, 2004). Durante la maduración de los quesos, la lipólisis libera ácidos grasos de cadena corta (menos de 12 átomos de carbono) que aportan al flavor de los quesos ya que presentan bajos umbrales de percepción. Según cuáles sean los AGL que se encuentren en el queso será la contribución a la percepción sensorial que se tenga: el ácido butírico (4:0) presenta sabor ácido mezclado con olor de esencia de queso y rancio, el ácido caproico (6:0) presenta sabor a cabra, establo y lana, los ácidos caprílico (8:0) y cáprico (10:0), sabor jabonoso (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2011).

Otros componentes que influyen en las propiedades sensoriales y, por ende, en la aceptabilidad de los quesos por parte de los consumidores, son los ácidos orgánicos (AO) formados: fórmico, acético, propiónico, valérico, úrico, lác-

tico, pirúvico, cítrico y oxálico. Los AO pueden formarse por diferentes vías. Por ejemplo, los carbohidratos son fermentados vía hexosa difosfato hacia ácido pirúvico, el que luego se convierte en ácido láctico. Junto con la formación del ácido láctico, distintas reacciones bioquímicas relacionadas con el metabolismo celular de los microorganismos presentes provocan la formación de otros ácidos orgánicos de cadena corta. Se producen en mayor cantidad y/o con diferente perfil en quesos con períodos de maduración más prolongado (Adda *et al.*, 1982). También pueden aparecer como consecuencia de la lipólisis hidrolítica de la materia grasa o por el agregado de acidulantes durante la elaboración del queso. Su determinación cuantitativa es importante por diferentes motivos: para estudios de flavor, para la tipificación de los diferentes quesos y como indicadores de la actividad de microorganismos (Califano y Bevilacqua, 1992).

Por todos estos motivos resulta interesante determinar el contenido de grasa de quesos de leche de oveja elaborados en Uruguay y su composición en ácidos grasos y en triglicéridos. Comparar dichos resultados con los de quesos de leche de oveja importados de países donde el mercado está más desarrollado y con condiciones productivas diferentes. Caracterizar a los quesos de leche de oveja elaborados en Uruguay respecto a su contenido y composición en ácidos grasos libres (y comparar estos valores con el perfil en ácidos grasos de la grasa extraída de ellos), y en ácidos orgánicos y compararlos con quesos de leche de oveja importados.

## • Materiales y métodos

Se estudiaron quesos de leche de oveja tanto nacionales como importados que se comercializan en Uruguay (Tabla 1). Los quesos importados eran de origen español y portugués. Los quesos de origen nacional se adquirieron en hormas enteras, sin fraccionar. Se agruparon en frescos (Q3 y Q6), de maduración corta

(Q1 y Q5) y de larga maduración (Q2 y Q4). Para la adquisición de los quesos de origen nacional se contactó directamente a los productores, los quesos frescos, se adquirieron inmediatamente después de su elaboración mientras que los madurados se adquirieron inmediatamente luego de transcurrido su período de maduración. La información sobre el período de maduración fue suministrada por las empresas aunque éstas no indicaron qué tipo de cuajo utilizaban ni si se agregó algún tipo de *starter*.

Previo a la realización de los análisis fisicoquímicos, se picaron en una procesadora 300 g de cada queso (realizando cortes en diferentes partes de la horma pero sin tener en cuenta los bordes) de forma de obtener una muestra representativa y suficiente para todos los análisis.

**Determinación del contenido de humedad de los quesos:** El contenido de humedad se determinó por duplicado por el método de secado convencional en estufa a 105 °C en cápsulas con arena según la Norma FIL-IDF 4:1958.

**Extracción del material graso:** Se empleó la técnica de Röse-Gottlieb (AOAC 905.02). Para dicha extracción se realizó un duplicado con muestras de 3 g de cada queso. Por pesada se determinó el contenido de grasa (expresada en base húmeda).

**Determinación del perfil de ácidos grasos del material graso extraído:** La materia grasa extraída se derivatizó según la técnica IUPAC 2.301 para obtener los ésteres metílicos correspondientes y luego se realizó el análisis por

cromatografía de gases (según técnica AOCS Ce 1c-89, AOCS Ce 1f-96). Se utilizó un equipo marca Shimadzu modelo 14B, provisto con una columna capilar Supelco SP-2560 (100 m × 0,25 mm × 0,2 μm).

**Determinación de la composición en triglicéridos (TAG):** Al material graso extraído se le efectuó un pre-tratamiento para eliminar posibles diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos que estuvieran presentes según la técnica COI/T.20/Doc. No 20 /Rev. 3 de 2010. Con el material graso purificado se preparó una solución de aproximadamente 5 mg/mL en acetona. El análisis de los TAG se realizó en un HPLC marca Shimadzu, modelo 20A provisto de detector ELSD-LT II (*light scattering*) y equipado con dos columnas tipo C-18 con tamaño de partícula 5 μm y dimensiones 250 mm × 4,6 mm. Cada inyección fue de 20 μL, y se utilizó como fase móvil una mezcla de acetona, acetonitrilo y cloroformo. Los resultados obtenidos se expresaron en función del Número de Partición (PN) según lo establecido en el trabajo realizado por Wada *et al.*, (1977) para caracterizar molecularmente a los TAG siendo  $PN = NC - 2 \times ND$ , donde NC es el número total de átomos de carbono del TAG (sin contar a los carbonos del glicerol) y ND es el número de dobles enlaces de los ácidos grasos que componen la molécula del TAG.

**Determinación del contenido y composición de los ácidos grasos libres (AGL):** Para cada muestra de queso se realizó una extracción por duplicado de los AGL (desde 4:0 hasta 18:2) de acuerdo al siguiente procedimiento.

Tabla 1 - Características de los quesos de leche de oveja estudiados.

Código	Tipo de queso	Origen	Maduración (meses)
Q1	Queso artesanal (sin tipificación)	Uruguayo	3 a 6
Q2	Queso tipo Pecorino	Uruguayo	9
Q3	Queso tipo Feta	Uruguayo	Fresco
Q4	Queso tipo Sardo	Uruguayo	6
Q5	Queso artesanal (sin tipificación)	Uruguayo	3
Q6	Queso tipo ricota	Uruguayo	Fresco
Q7	Queso Manchego (DPO)	Español	Madurado (sin información)
Q8	Queso portugués (sin tipificación)	Portugués	Madurado (sin información)

Primero se extrajeron los lípidos totales de acuerdo con la técnica reportada por de Jong y Badings (1990). Se utilizaron como estándares los ácidos grasos 5:0; 7:0; 13:0 y 17:0, con una concentración aproximada de 0,5 mg/mL de cada uno de ellos. Una vez obtenidos los lípidos, se separaron los AGL de la fracción lipídica por cromatografía en columna. Se usaron columnas SupelClean de 3 mL de fase sólida (sílice/aminopropilo). Al extracto final obtenido se le añadió 1,00 mL de una solución del ácido graso estándar 9:0 (1 mg/mL) y se inyectó 2  $\mu$ L en un cromatógrafo de gases marca Shimadzu modelo GC-2014 provisto de una columna capilar Nukol (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu$ m) y detector FID. Los resultados se expresan en mg de AGL/kg de queso en base húmeda.

**Determinación del contenido y composición en ácidos orgánicos (AO):** Para cada muestra de queso se realizó

una extracción por duplicado de los AO utilizando como referencia el método Bouzas *et al.*, (1991) con algunas modificaciones. Previo a la determinación del contenido y composición de AO, se realizaron curvas de calibración para cada uno de los AO a determinar. La determinación se realizó en un HPLC equipado con un detector UV a 210 nm y una columna Rezex ROA- Organic Acid H+. Se empleó un flujo de 1,0 mL/min, una temperatura de horno de 65 °C y la fase móvil usada fue una solución 0,005 M en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con acetonitrilo (hasta un 20 %). Los resultados se expresaron en mg de AO/kg de queso en base húmeda.

## • Resultados y Discusión

El contenido de humedad y de materia grasa extraída de los ocho quesos de leche de oveja estudiados se presenta en la Tabla 2. Teniendo sólo en cuenta los

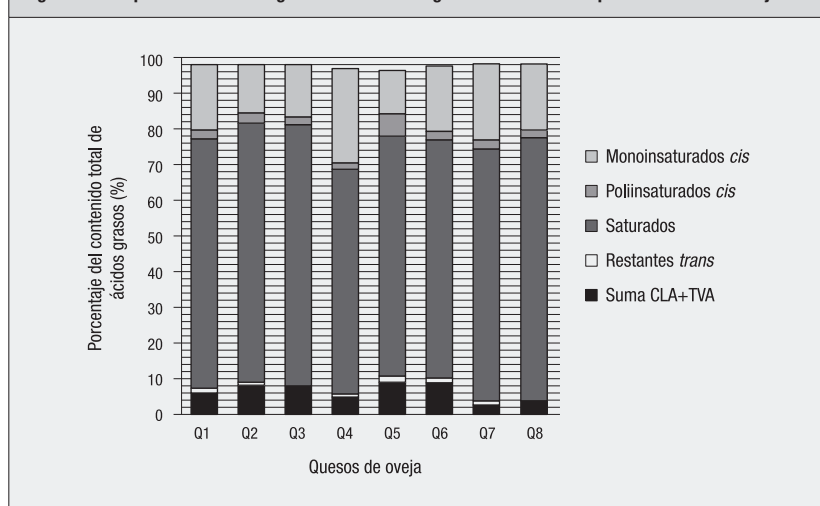
quesos uruguayos (Q1 a Q5) y exceptuando el queso tipo ricota (Q6), el porcentaje de grasa promedio fue de 27,2 % (bh) y 43,5 % en base seca (bs). El queso tipo ricota (Q6) presentó un contenido de grasa de 9,0 % (bh) y 27,3 % (bs). Este tipo de queso generalmente se elabora por un segundo procesamiento del suero de leche producido como derivado en la elaboración de quesos de pasta blanda. Eso podría explicar su menor contenido de grasa. No se encontró una explicación para el bajo contenido de grasa (bs) del queso tipo Pecorino. Las diferencias en el contenido de humedad y de materia grasa entre los distintos quesos indican que es muy importante el conocimiento de las características de la leche de oveja empleada (por ejemplo, raza, alimentación y sistema de producción utilizado con las ovejas) así como los procesos de elaboración.

En la Figura 1 se indica la composición porcentual en ácidos grasos de los ocho quesos de oveja analizados. Los resultados obtenidos son concordantes con lo encontrado por Cabrera *et al.*, (2013). El contenido promedio de ácidos grasos saturados fue 69,4 %, el de ácidos grasos monoinsaturados *cis* 17,0 % y el de ácidos grasos poliinsaturados *cis* 2,9 %. Para los quesos extranjeros el contenido en ácidos grasos saturados fue 72,3 %, monoinsaturados *cis* 20,1 % y poliinsaturados *cis* 2,3 %. En todas las muestras, la suma del contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) y de ácido trans-vaccénico (TVA) fue considerablemente superior al contenido de los restantes *trans*. Esto indica un mayor contenido de ácidos grasos *trans* con propiedades benéficas para la salud. Los quesos de origen extranjero presentaron, en promedio, una suma del contenido de CLA y TVA de 3,2 % y de 0,6 % para los restantes *trans*. Para los quesos uruguayos (sin tener en cuenta al queso tipo ricota) el promedio de la suma del contenido de CLA y TVA fue de 7,2 % y 0,9 % para los restantes *trans*. Para el queso tipo ricota la suma del contenido de CLA y TVA fue de 8,8 % y de 1,4 % para los restantes *trans*. Es decir, los quesos uruguayos presentaron,

Tabla 2 - Contenido de humedad y de materia grasa (%) extraída de quesos de leche de oveja.

Queso	Contenido de humedad (%)	Contenido de grasa (% en base húmeda)	Contenido de grasa (% en base seca)
Q1	41,9 $\pm$ 0,1	26,4 $\pm$ 0,3	45,4 $\pm$ 0,6
Q2	28,7 $\pm$ 0,4	24,0 $\pm$ 0,2	33,6 $\pm$ 0,3
Q3	49,4 $\pm$ 0,5	20,8 $\pm$ 0,93	41,1 $\pm$ 1,8
Q4	27,4 $\pm$ 0,7	32,0 $\pm$ 0,6	44,1 $\pm$ 0,9
Q5	38,1 $\pm$ 0,1	32,9 $\pm$ 1,2	53,2 $\pm$ 2,0
Q6	67,2 $\pm$ 0,1	8,9 $\pm$ 0,4	27,3 $\pm$ 1,1
Q7	28,5 $\pm$ 0,1	35,7 $\pm$ 1,0	49,9 $\pm$ 1,4
Q8	42,1 $\pm$ 0,1	26,0 $\pm$ 0,4	44,8 $\pm$ 0,6

Figura 1 - Composición en ácidos grasos de la materia grasa extraída de los quesos de leche de oveja.



en promedio, contenidos muy superiores a los correspondientes a los de los dos quesos importados.

Los ácidos grasos de cadena corta y media (como los ácidos 4:0; 6:0; 8:0 y 10:0) son característicos de la leche de rumiantes. En la Figura 2 se indica la composición en ácidos grasos cortos y medios de la grasa extraída de los quesos. Para los quesos uruguayos el contenido promedio fue de 15,5 %, (13,1 % para el queso tipo ricota) y de 15,2 % para los quesos importados, por lo que no hay diferencias importantes entre ambos grupos de quesos. Sin embargo, para el queso uruguayo tipo Sardo Q4 el porcentaje del contenido total de ácidos grasos cortos fue muy inferior (del orden del 5 %) con respecto a las demás muestras (también fue menor la suma de CLA y TVA).

La grasa de la leche de oveja presenta un contenido entre 13 % y 20 % para la suma de los ácidos grasos de cadena corta y media; éstos se encuentran en cantidades significativamente mayores que en la grasa de la leche de vaca donde la suma está entre 2,5 % y 10 % (Park *et al.*, 2007). Los quesos importados no difieren de alguno de los uruguayos aunque, en general, presentan valores inferiores (posiblemente por diferencias de raza y alimentación, explotación semi-intensiva, entre otros). En la grasa del queso Q4 dichos ácidos grasos de cadena corta y media no se encuentran en la cantidad esperada. Esto podría ser un indicio de que este queso no fue elaborado únicamente con leche de oveja tal como se determinó en el trabajo de Vieitez *et al.*, 2016.

En la Figura 3 se indica la composición porcentual en TAG según el número de partición (PN) de la materia grasa de los ocho quesos de oveja. Los TAG que se encuentran en mayor proporción presentan PN comprendidos entre 34 y 48; en general, el máximo se encuentra en un PN de 36 (promedio 14,8 %). Los resultados de este trabajo concuerdan con los encontrados por Nájera *et al.*, (1998),

donde los TAG con mayor porcentaje en la grasa de queso de leche de oveja fueron los de PN 34, 36 y 38. Todas las muestras analizadas en este estudio presentaron dos zonas diferenciadas de grupos de TAG: una zona cuyo valor máximo se encuentra alrededor de PN 36 y otra zona, alrededor de PN 46 - 48. Sin embargo, la muestra Q4 presenta un valor muy grande (22,9 %) en PN 48, lo que la diferencia de los otros quesos de oveja analizados. Esta singularidad (además de las otras mencionadas anteriormente) amerita una discusión más detallada.

Cabrera, *et al.*, 2013, mostraron que en Uruguay los dos máximos de contenido

porcentual en TAG para la grasa de quesos de leche de oveja corresponden a PN 36 y 42 y para quesos de leche de vaca a un PN de 48. En el mencionado trabajo se destaca que los TAG de cadena larga de la grasa de leche de vaca están constituidos, principalmente, por el 14:0 y el 16:0 y dentro de los insaturados, por el 18:1. Por esto se plantea que los TAG 16:0/18:1/18:1, 14:0/18:0/18:1 y 16:0/16:0/18:1 (correspondientes a un PN de 48) serían los más abundantes. Por lo tanto, si los TAG mayoritarios de la grasa de leche de vaca corresponden a un PN de 48, el perfil de TAG encontrado para la muestra Q4 (tipo Sardo) es un nuevo indicio de que este queso podría haber sido elaborado con agregado de

Figura 2 - Composición en ácidos grasos cortos y medios de la materia grasa extraída de quesos de leche de oveja.

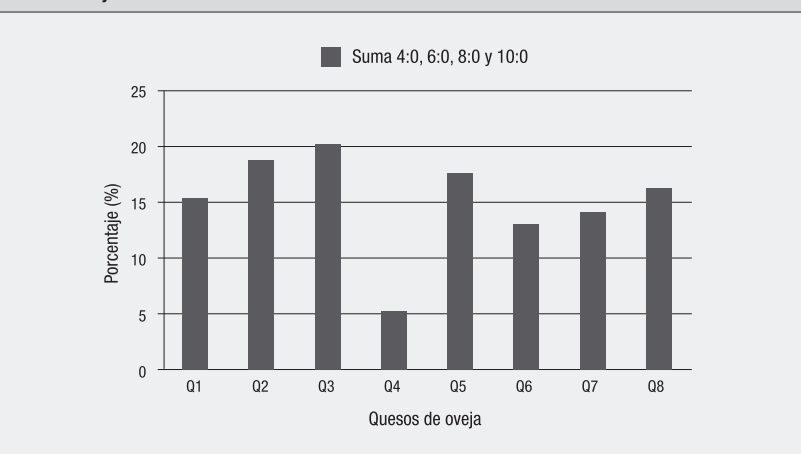
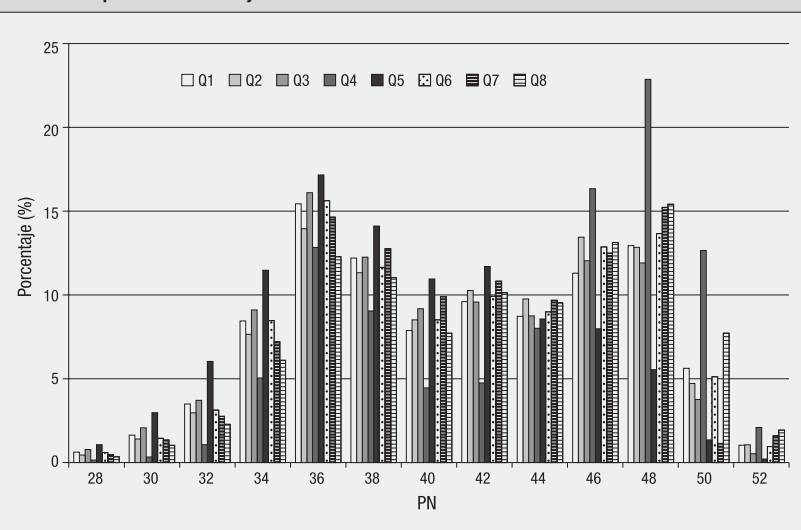


Figura 3 - Composición en triglicéridos (%) en función del número de partición (PN) de la materia grasa extraída de quesos de leche oveja.



leche de vaca (si bien esto no está declarado en su etiqueta).

En la Tabla 3 se presenta el contenido de AGL de cadena corta (del 4:0 al 8:0) (mg/kg de queso expresado en base húmeda) y contenido total de AGL (suma del 4:0 al 18:2) en la materia grasa extraída, contenido total de grasa (mg/kg de queso expresado en base húmeda), porcentaje de la suma 4:0 al 8:0 sobre el total de los AGL y porcentaje de AGL en la materia grasa de los quesos. El porcentaje de AGL en el total de la grasa es muy bajo: varía entre 0,6 - 0,8 % para los quesos de corta maduración, entre 2,0 - 2,4 para los quesos de prolongada maduración; como excepciones para el Q3 (tipo Feta) se obtuvo un valor de 4,2 % aunque es un queso fresco, lo que indicaría un mayor desarrollo de lipólisis hidrolítica, y para

el Q6 (tipo ricota) un valor de 3,6 %, para el cual debe considerarse que es un queso elaborado en condiciones muy diferentes al resto. El porcentaje más elevado de todos los quesos correspondió al portugués (4,4 %). Esto indica que, si bien la lipólisis es muy importante por su contribución al perfil sensorial de los quesos, es cuantitativamente pequeña respecto al contenido lipídico total de los quesos.

El porcentaje de la suma 4:0 al 8:0 (que son los que contribuyen mayoritariamente al flavor de los quesos) sobre el total de AGL varía con el tipo de queso, desde 2,2 % hasta 24,0 %. Los quesos de mayor contenido de ácidos grasos cortos fueron los que presentaron períodos prolongados de maduración: Q2 (tipo Pecorino), Q4 (tipo Sardo), Q7 (Manchego) y Q8 (portugués). Los quesos

frescos (tipo ricota y tipo Feta) presentaron bajos porcentajes de AGL cortos. En los quesos uruguayos se ve una relación entre el contenido total de AGL y lo prolongado de su maduración (excepto para los quesos frescos). Para los quesos uruguayos Q1 y Q5 (de corta maduración), los valores obtenidos para la suma total de AGL fueron: 2136 y 1982 mg/kg de queso respectivamente. Los quesos de prolongada maduración uruguayos (Q2 y Q4) presentaron valores más elevados: 5852 y 6372 mg/kg de queso respectivamente. Mangia *et al.*, (2008) estudiaron la influencia de la adición de un iniciador (después del agregado de cuajo de cordero) sobre los AGL durante diferentes períodos de maduración de un queso Fiore Sardo elaborado son leche de oveja cruda. El contenido total de AGL fue de 20670 mg/kg de queso para el queso con iniciador y de 23470 mg/kg de queso para el queso sin iniciador después de 5 meses de maduración. Estos valores son del orden de 4 veces mayores que los encontrados en el queso Sardo uruguayo. Algo similar ocurrió con el contenido de cada ácido grasso corto. En la literatura también se encuentran valores muy inferiores a los de Mangia *et al.*, (2008) debido al uso de otras tecnologías y otros starters. Georgala *et al.*, (2005) estudiaron el contenido de AGL (del 4:0 al 18:2) para dos quesos Feta tradicionales con diferente cantidad de días después de elaboración. A ambos les adicionaron yogur como cultivo iniciador; a uno de ellos le agregaron una mezcla de cuajo artesanal y comercial, al otro sólo cuajo artesanal. A los 18 días de almacenamiento a 15 °C uno contenía un total de AGL de 4186 mg/kg de queso y el otro 6961 mg/kg de queso. Los valores encontrados en este trabajo se encuentran dentro de dicho rango. Kondyli *et al.*, (2012) estudiaron quesos Feta elaborados con leche pasteurizada y con el agregado de un starter tradicional de *Streptococcus* y *Lactobacillus*. A los 60 días de almacenamiento el contenido total de AGL (de 4:0 a 18:2) fue de 773 - 797 mg/kg de queso. Estos valores son muy inferiores a los encontrados en este trabajo. Estas diferencias confirman la importancia de conocer las

**Tabla 3 - Contenido de AGL de cadena corta (del 4:0 al 8:0) (mg/kg de queso expresado en base húmeda) y contenido total de AGL (suma del 4:0 al 18:2) en la materia grasa extraída de los quesos, contenido total de grasa (mg/kg de queso expresado en base húmeda), porcentaje de la suma 4:0 al 8:0 sobre el total de los AGL y porcentaje de AGL en la materia grasa de los quesos.**

Queso	4:0	6:0	8:0	10:0	Suma 4:0 al 8:0	Total AGL	Porcentaje 4:0 al 8:0 sobre AGL	Grasa total mg/kg de queso (en base húmeda)	Porcentaje de AGL (en grasa)
	mg/kg de queso (en base húmeda)								
Q1	41	21	24	39	86	2136	4,0	264000	0,8
Q2	935	263	205	325	1403	5852	24,0	240000	2,4
Q3	43	64	130	68	237	8647	2,7	208000	4,2
Q4	769	274	172	291	1215	6372	19,1	320000	2,0
Q5	51	30	37	90	118	1982	6,0	329000	0,6
Q6	21	22	28	19	71	3204	2,2	89000	3,6
Q7	245	84	70	127	399	2967	13,4	357000	0,8
Q8	1021	461	556	1239	2038	11487	17,7	260000	4,4

**Tabla 4 - Composición porcentual de los ácidos grasos principales sobre la materia grasa extraída y la composición porcentual de los ácidos grasos libres (AGL) sobre el total de ellos.**

Ácido grasso	4:0	6:0	8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	
Q1	Grasa	2,6	2,5	2,5	7,9	4,3	10,6	27,1	10,1	16,5	1,2
	AGL	1,9	1,0	1,1	1,8	1,7	4,7	36,7	16,1	32,0	1,3
Q2	Grasa	3,8	3,3	2,9	8,9	4,6	12,1	27,7	7,2	12,8	1,3
	AGL	16,0	4,5	3,5	5,6	3,3	7,9	28,1	7,5	19,9	1,5
Q3	Grasa	4,0	3,5	3,5	9,2	4,7	11,8	27,3	6,8	13,4	1,0
	AGL	0,5	0,7	1,5	0,8	1,7	1,4	40,7	10,4	37,8	2,5
Q4	Grasa	1,6	1,2	0,7	1,8	2,3	9,9	28,9	14,5	23,8	1,3
	AGL	12,1	4,3	2,7	4,6	4,2	8,7	28,3	7,9	22,0	0,8
Q5	Grasa	2,2	2,5	2,8	10,2	6,0	11,0	24,2	6,1	11,4	3,2
	AGL	2,6	1,5	1,9	4,5	3,4	6,3	40,6	17,2	20,4	0,1
Q6	Grasa	2,2	2,2	2,0	6,7	3,7	10,6	27,8	9,4	17,1	1,0
	AGL	0,7	0,7	0,9	0,6	1,6	1,7	37,6	15,3	37,1	1,6
Q7	Grasa	2,2	2,2	2,3	7,5	4,4	11,0	27,2	11,7	20,0	2,0
	AGL	8,3	2,8	2,4	4,3	2,9	5,9	32,0	15,6	22,5	1,1
Q8	Grasa	3,0	2,7	2,5	8,0	4,4	12,4	26,9	11,9	17,5	1,1
	AGL	8,9	4,0	4,8	10,8	5,5	12,2	24,6	7,9	17,4	1,0

condiciones de elaboración de los diferentes quesos además del momento de su vida útil en el cual se encuentran.

Poveda & Cabezas, (2006) informan concentraciones totales de AGL inferiores a 4000 mg/kg de queso en muestras de queso Manchego, siendo el valor mínimo encontrado en su estudio de 2397 mg/kg de queso. El queso Manchego estudiado en este trabajo (Q7) concuerda con lo reportado. El queso portugués Q8 presentó el mayor contenido de AGL de todos los quesos estudiados, lo que podría ser explicado porque, además de ser un queso madurado, se encontraba en una etapa más avanzada de su vida útil.

En la Tabla 4 se indica la composición (%) de los ácidos grasos principales sobre la materia grasa extraída y la composición (%) de los AGL sobre el total de ellos, para poder determinar cuán selectiva fue la hidrólisis producida por las enzimas lipolíticas presentes en cada queso, que pueden ser de distinto origen y características cinéticas.

En todos los quesos estudiados el porcentaje mayoritario de AGL correspondió a los de cadena media y larga (de 12:0 a 18:2), siendo los ácidos 14:0; 16:0; 18:0 y 18:1 los más abundantes. Esto es concordante con lo informado por Estrada *et al.*, (2007). El porcentaje de 4:0 es significativamente superior en los quesos de maduración larga uruguayos (Q2 y Q4) y extranjeros (Q7 y Q8) que en los quesos frescos y de corta maduración (Q1, Q3, Q5 y Q6). Esto se puede explicar por el hecho de que la lipólisis ocurre durante la maduración y, por lo tanto, es de esperar que este ácido graso se encuentre en mayor cantidad en los quesos más madurados. El mismo comportamiento se observa para los AGL 6:0, 8:0 y 10:0. Por lo tanto, en estos quesos madurados se deberían percibir los aromas y sabores característicos de estos ácidos grasos. Sin embargo, éste no es el comportamiento del contenido total de AGL, donde se incluyen también los de cadena media y larga. Esto estaría

dando una pauta de que la hidrólisis tuvo diferentes grados de selectividad.

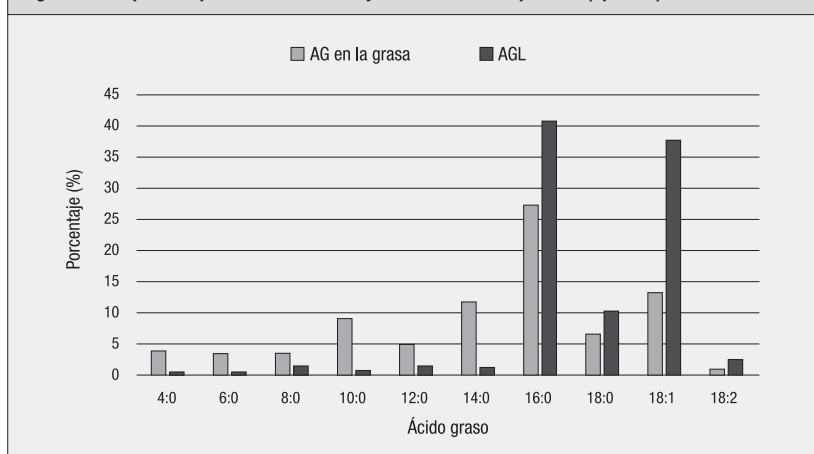
Se determinó la composición en ácidos grasos (ya fueran libres como combinados) de la materia grasa extraída, la que está constituida principalmente por triglicéridos pero incluye también monoglicéridos, diglicéridos y AGL. Si todos los AGL corresponden a todos los monoglicéridos y diglicéridos provenientes de la hidrólisis de los TAG, la composición global en ácidos grasos de la materia grasa extraída debe ser igual a la de la materia grasa antes de sufrir la lipólisis. En consecuencia, comparando la composición porcentual de los ácidos grasos principales de la materia grasa extraída con la de los AGL (Tabla 4) se puede estudiar la selectividad de las enzimas lipolíticas involucradas en la elaboración de cada queso. En todos los quesos, la proporción de los ácidos grasos de cadena corta (4:0 a 10:0) presentó modificaciones respecto de la composición de la grasa extraída del queso: en algunos casos aumentó y en otros disminuyó. El 4:0, al igual que otros ácidos grasos de cadena corta y media, se encuentra principalmente en la posición sn-3 y es liberado principalmente por enzimas con selectividad del tipo sn-1,3. Por lo tanto, según el tipo de queso habría presentes enzimas con diferentes características de selectividad. Las enzimas lipolíticas de los quesos Q2, Q4, Q5, Q7 y Q8 podrían presentar cierto grado de selectividad sn-1,3. Parecería que esta selectividad

disminuye a medida que aumenta el largo de cadena. Por ejemplo, en el queso Q2, el 4:0 se multiplicó por 4,2; el 6:0 se multiplicó por 1,4; el 8:0 por 1,2 y el 10:0 por 0,6. En la mayoría de los quesos el aumento del porcentaje de AGL medios y largos fue considerable. En la Figura 4 se indica la variación para el queso Q3. Estas variaciones muestran una selectividad importante de las enzimas lipolíticas actuantes: el 12:0 y el 14:0 tienden a disminuir y los otros ácidos grasos largos, tienden a aumentar. Se observa una tendencia similar en todos los quesos estudiados (Tabla 4).

En gran medida, estas variaciones encontradas se vinculan con el tipo de enzimas lipolíticas presentes en los cuajos empleados así como con la presencia de lipasas nativas de la leche (se desconoce la naturaleza y contenido de microorganismos del cuajo y de las enzimas de la leche para los quesos uruguayos). El hecho de que haya más AGL de cadena media y larga se podría atribuir a una posible lipólisis previa en el tambero y no a una lipólisis microbiana en la elaboración del queso, dado que como se mencionó anteriormente la misma actuaría sobre posiciones específicas del triglicérido liberando AG de cadena corta principalmente.

En la Figura 5 se indica el porcentaje de los ácidos orgánicos (calculado sobre el total de AO) de los ocho quesos estudiados. El contenido total de AO fue muy

Figura 4 - Composición porcentual de los AGL y combinados en el queso Q3 (tipo Feta).



diferente en los quesos estudiados como se ve en la Tabla 5. Las muestras Q2, Q4, Q7 y Q8 presentaron mayor contenido con valores entre 15189 y 35812 mg/kg de queso con respecto a Q1, Q3, Q5 y Q6 (que presentaron valores entre 7085 y 13462 mg/kg de queso). Esta diferencia se puede explicar por el grado de maduración de los quesos ya que los

AO son el resultado de varios procesos que tienen lugar durante la misma. Por lo tanto, cuanto mayor sea el período de maduración y el tiempo de conservación de un queso, más alto podrá ser el contenido en AO.

El contenido de ácido láctico fue el más alto encontrado en todos los quesos ana-

lizados (excepto en el Q6, tipo ricota, que fue ligeramente menor al contenido de ácido propiónico): entre el 38 % y 82 % del total de los AO. Esto coincide con lo reportado por otros autores. Por ejemplo, Califano y Bevilacqua (1992) informan que la concentración de ácido láctico es mayor en comparación con los demás AO presentes en los quesos, pudiendo representar hasta un 90 %. Su alto contenido es el resultado de la fermentación natural por bacterias lácticas que proceden de la leche y que degradan la lactosa. En la fermentación primaria de los carbohidratos se forma, fundamentalmente, ácido láctico y en la fermentación secundaria, se forman los ácidos acético y propiónico. Por eso el contenido en ácido propiónico de los quesos estudiados fue el que siguió en importancia al contenido en ácido láctico (excepto en el queso Q6, tipo ricota). El queso Q2 (tipo Pecorino), elaborado con un prolongado período de maduración (9 meses), tuvo un comportamiento diferente ya que presentó cantidades más altas de ácido acético que de propiónico (aunque menores que de láctico). Esto se podría explicar por la posible presencia de ciertas bacterias lácticas (no confirmadas porque no se hizo un estudio microbiológico) responsables de transformaciones enzimáticas que dieron lugar a la formación de los ácidos acético, propiónico e isobutírico durante el proceso de maduración, (Califano y Bevilacqua, 1992). Pereira *et al.*, (2010) informan los contenidos de ácido láctico, cítrico y acético para quesos elaborados con leche de oveja de origen portugués: durante la maduración alcanzaron valores máximos de 15000, 1700 y 7000 mg/kg de queso, respectivamente. En este estudio se observó que todos los quesos presentaron contenidos menores en los tres AO que los determinados en el trabajo mencionado (con excepción del contenido de ácido acético en el queso Q2). Esto muestra la importancia de saber las condiciones de elaboración de los quesos para poder comparar los resultados.

En la Figura 6 se compara el contenido total (mg/kg de queso) de AO con el contenido total (mg/kg de queso) de

Figura 5 - Contenido de ácidos orgánicos principales (% sobre el total de AO) en los ocho quesos de leche de oveja estudiados.

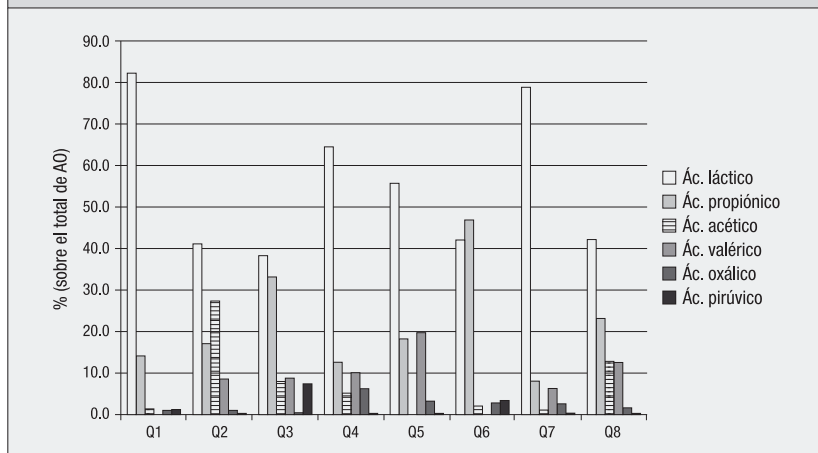
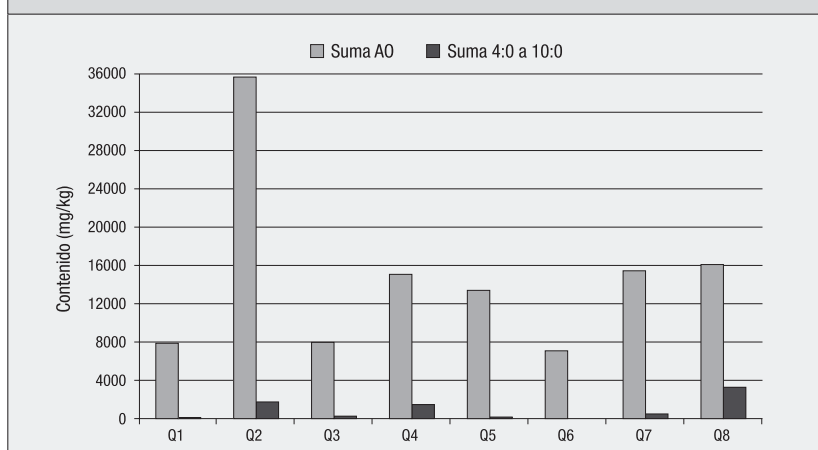


Tabla 5 - Contenido individual de AO (mg/kg de queso expresado en base húmeda).

Queso	Ac. Láctico	Ac. Propiónico	Ac. Acético	Ac. Valérico	Ac. Oxálico	Ac. Pirúvico	Total AO
	mg/kg de queso (en base húmeda)						
Q1	6455	1096	116	0	80	84	7831
Q2	14739	6076	9801	3081	379	86	35812
Q3	3090	2672	666	704	42	600	8070
Q4	9805	1917	814	1541	952	40	15189
Q5	7501	2452	0	2654	438	33	13462
Q6	2979	3313	160	0	192	224	7085
Q7	12286	1256	209	954	410	18	15538
Q8	6845	3749	2098	2026	249	26	16108

Figura 6 - Comparación del contenido total de AO con el contenido total de AGL cortos (del 4:0 al 10:0).





AGL cortos (del 4:0 al 10:0). El contenido de AO fue, en general, más de 10 veces superior que el de la suma de los AGL cortos. Si se compara por ejemplo el contenido (mg/kg de queso) del AGL 4:0 y de los ácidos orgánicos láctico, acético y propiónico (los que presentaron porcentajes superiores al 10 % sobre el total de AO en algunos de los quesos) en los ocho quesos estudiados. No se encontró una relación entre los contenidos de 4:0 (AGL principal) y de los AO principales, dado que se producen por vías metabólicas diferentes e independientes. Por ejemplo, el queso Q2 tuvo un alto contenido en todos los AO y en 4:0, pero el queso Q7 presentó un contenido alto en ácido láctico y bajo en 4:0 (y en los otros AO). O sea, cada queso presentó un perfil propio en AO y AGL, lo que podría influir de manera diferente en sus perfiles sensoriales.

## • Conclusiones

La determinación de la composición en ácidos grasos (especialmente CLA y TVA) y TAGs definen un perfil para la grasa de los quesos de leche de oveja uruguayos diferente de la de los quesos importados, lo que es importante desde el punto de vista de la salud. La determinación de la composición en TAG puede también ser una herramienta útil para detectar si un queso elaborado con leche de oveja está adulterado con leche de vaca.

Estos resultados representan también una primera caracterización de los quesos de leche de oveja elaborados en Uruguay respecto a la lipólisis y por tanto a los AGL que son uno de los compuestos con mayor incidencia en el flavor. El contenido en AGL de los quesos con períodos de maduración prolongado es superior tanto en los quesos uruguayos (Q2 y Q4) como los extranjeros (Q7 y Q8) con respecto a los quesos frescos y de corta maduración (Q1, Q3, Q5 y Q6). De los AO, el contenido de ácido láctico fue el más elevado en todos los quesos analizados (excepto en el Q6 que fue ligeramente menor al

contenido de ácido propiónico). Debido a ello, se esperaría detectar olores lácteos en los mismos (especialmente en el Q2 y Q7). En el queso Q2 donde el contenido de ácido acético y láctico fue alto, sería probable encontrar otros olores más penetrantes e invasivos como a vinagre. El contenido total de AO fue, en general, más de 10 veces superior que el de la suma de los AGL cortos. Sin embargo, no hay una correlación entre los contenidos de 4:0 (AGL principal) y de los AO principales, dado que se producen por vías metabólicas diferentes. Estos resultados permiten realizar una primera caracterización en cuanto al contenido y composición en AGL y AO en quesos de leche de oveja uruguayos. Es necesario profundizar en estas relaciones entre el contenido y perfil de los AGL cortos y AO con las notas sensoriales involucradas.

## Reconocimiento

Este trabajo fue financiado por el programa de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación bajo el código FMV\_2\_2011\_1\_5760, y PEDECIBA-Química.

## • Referencias

- Juárez, M., Anadón, A., Cepeda, A., Farré, R., Palou, A., Vidal, M.C. & Becerril, C., (2010). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el riesgo asociado a la presencia de ácidos grasos trans en alimentos. Revista del Comité Científico N°12.
- Estrada, O., Molino, F., Joy, M., Ariño, A., Juan, T., (2007). Composición en ácidos grasos de la leche de oveja ASSAF y modificación en el perfil de ácidos grasos libres del queso de Teruel durante la maduración. Centro de Investigación y Tec. Agroalimentaria de Aragón, Facultad de Veterinaria de Zaragoza. XV Jornadas sobre Producción Animal.
- Sanchez-Ponte, M. (2004). Estudio sobre los ácidos grasos libres en queso blanco venezolano. Revista de la Facultad de Farmacia, 46 (2), 23-32.
- Raynal-Ljutovaca, K., Le Papeb, M., Gaborita, P., and Barrucand, P. (2011). French goat milk cheeses: An overview on their nutritional and sensorial characteristics and their impacts on consumers' acceptance. Small Ruminant Research, 101, 64-72.
- Adda, J., Gripon, J. C. & Vassal, L., (1982). The

chemistry of flavour and texture generation in cheese. Food Chemistry, 9, 115-29.

- Califano, N. y Bevilacqua, A., (1992). Changes in organic acids during ripening of Port Salut Argentino cheese. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, UNLP, Argentina. Food Chemistry, 43, 345-349.
- Wada, S., Koizumi, C., Nonaka, J., (1977). Analysis of triglycerides of soybean oil by high performance liquid chromatography in combination with gas liquid chromatography. Yukagaku, 26, 95-99.
- Jong, C., Badings, H.T., (1990). Determination of free fatty acids in milk and cheese procedures for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis. Journal of High Resolution Chromatography, 13, 94-98.
- Bouzas, J., Kantt, C. A., Bodyfelt, F., Torres, A., (1991). Simultaneous determination of sugars and organic acids in Cheddar cheese by High-Performance Liquid Chromatography. J. Food Sci., 56, 276-278.
- Cabrera, L., Callejas, N., Saibene, M., (2013). Estudio de las propiedades térmicas y del contenido de CLA y grasas trans en alimentos de ingesta frecuente en la población uruguaya. Trabajo experimental. Laboratorio de Grasas y Aceites, Facultad de Química, UdelaR.
- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M. & Haenlein, G. F. W., (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research, 68, 88-113.
- Vieitez, I., Irigaray, B., Callejas, N., González, V., Gimenez, S., Arechavaleta, A., Grompone, M., Gámbaro, A. (2016). Composition of fatty acids and triglycerides in goat cheeses and study of the triglyceride composition of goat milk and cow milk blends. Journal of Food Composition and Analysis, 48, 95-101.
- Nájera, A. I., Barcina, Y., De Renobales, M., Barron, L. J. R., (1998). Determination of the triacylglycerol composition of Idiazabal cheese. Chromatografía, 47, 9/10, 576-579.
- Mangia, N. P., Murgia, N. A., Garau, G., Sanna, M. G., Deiana, P., (2008). Influence of selected lab cultures on the evolution of free fatty acids and Fiore Sardo cheese microflora during the ripening. Food Microbiology, 25, 366-377.
- Georgala, A., Moschopoulou, E., Aktypis, A., Massouras, T., Zoidou, E., Kandarakis, I., Anifantakis, E., (2005). Evolution of lipolysis during de ripening of traditional Feta cheese. Food Chemistry, 93, 73-80.
- Kondyli, E., Pappa, E. C., Vlachou, A. M., (2012). Effect of package type on the composition and volatile compounds of Feta cheese. Small Ruminant Research, 108, 95-101.
- Poveda, J.M., Cabezas, L., (2006). Free fatty acid composition of regionally-produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics. Food Chemistry, 95, 307-311.
- Pereira, C.I., Neto, D.M., Capucho, J.C., Gião, M.S., Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., (2010). How three adventitious lactic acid bacteria affect proteolysis and organic acid production in model Portuguese cheeses manufactured from several milk sources and two alternative coagulants. Journal of Dairy Science, 93, 1335-1344 ■