

CONTENIDO DE ACIDEZ EN LECHE DESCREMADA INOCULADA CON CEPAS DE *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*

Acidity content of cultures in skim milk with strains of *Enterococcus faecalis*,
Lactobacillus casei, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*

Lilibeth Cabrera Salas
Alexis Ferrer Ocando

Laboratorio de Alimentos, Departamento de Química
Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia, Apdo. 526
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Once cepas de *Enterococcus faecalis*, siete de *Lactobacillus casei*, cuatro de *Enterobacter aerogenes* y cuatro de *Enterobacter cloacae* aisladas de queso tipo Palmita comercial se cultivaron en leche descremada estéril al 10% en forma de cultivos simples con el fin de seleccionar cepas mayor productoras de acidez titulable en el caso de los *Enterococcus* y *Lactobacillus*. Con respecto a los *Enterobacter* se seleccionaron las de menor producción. Estas cepas se utilizaron posteriormente en cultivos múltiples los cuales se evaluaron en su producción de acidez titulable. Los resultados mostraron diferencias significativa ($P < 0.05$) entre cepas de una misma especie en cultivos simples, y entre combinaciones de cepas en cultivos múltiples. Las cepas de *Enterobacter* y *Lactobacillus* produjeron más ácidos que las cepas de *Enterococcus*. Las cepas seleccionadas fueron: *E. faecalis* (4 cepas), *L. casei* (3 cepas) y *E. aerogenes* (2 cepas). Los cultivos múltiples resultaron con mayores niveles de acidez que los cultivos simples, y a su vez no se observaron diferencias significativas entre los cultivos múltiples analizados. Estos resultados sugieren que los cultivos múltiples pueden ser utilizados como cultivos iniciadores debido a la garantía de mayor actividad fermentativa.

Palabras claves: Acidez, leche descremada, cultivos simples, cultivos múltiples, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*.

ABSTRACT

Eleven strains of *Enterococcus faecalis*, seven of *Lactobacillus casei*, four of *Enterobacter aerogenes* and four of *Enterobacter cloacae* isolated from Palmita-type cheese were cultured on 10% sterile skim milk as in single strain culture in order to select strains with higher yield in titrable acidity in the case of *Enterococcus* and *Lactobacillus*. In case of *Enterobacter*, lower yield strains were selected. These strains were used in multiple strains culture which were evaluated for the yield in titrable acidity. The results showed significative differences ($P < 0.05$) among strains from the same species in single strain culture and among combinations of strains in multiple strain culture. Strains of *Enterobacter* and *Lactobacillus* gave higher level of acidity than the strains of *Enterococcus*. The selected strains were: *E. faecalis* (4 strains), *L. casei* (3 strains), and *E. aerogenes* (2 strains). Multiple strains culture resulted with higher level of acidity than the single strain culture. No differences were observed among the multiple strain culture analyzed. These results suggest that the multiple strain culture can be used as starters since they give higher fermentative activity.

Key words: Acidity, skim milk, single culture, multiple culture, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*.

INTRODUCCIÓN

En los cultivos iniciadores para la fabricación de queso resulta una cualidad esencial la producción activa de ácido láctico.

tico [11, 20, 28]. Esto no sólo proporciona acidez sino que contribuye parcialmente a coagular la leche por precipitación de la caseína debido a la disminución del pH [14, 17]. Esto entre otras modificaciones importantes, también se traduce en cambios deseables en la textura [2]. La cantidad de ácido formado y la velocidad de su producción afectan directamente las características del producto final, por ello resulta importante seleccionar las cepas constituyentes de un cultivo iniciador para que la producción de acidez deseada ocurra a una velocidad y cantidad tal que el proceso de fermentación pueda cumplirse en forma normal, de manera que garantice un cultivo activo durante todo el proceso de elaboración del queso [24]. El contenido de ácido láctico representa un punto de partida para el sabor típico del queso, y a éste se le suman otros ácidos como succínico, propiónico, acético, butírico, caproico, así como sus ésteres y cetonas provenientes del metabolismo de la lactosa y el citrato [10, 21, 22]. En quesos madurados estos ácidos provienen también de la desaminación de los aminoácidos, de lipólisis y proteólisis [10, 11, 16].

La búsqueda de posibles cultivos iniciadores para la elaboración de queso tipo Palmita con leche pasteurizada se ha concentrado en especies que se encuentran en grandes cantidades en el queso tipo Palmita comercial tales como *E. faecalis*, *L. casei* y *Enterobacter* [6, 7]. Las dos primeras especies se encuentran en niveles de 10^8 ufc/g en el queso, y se ha demostrado que algunas cepas de estos microorganismos [9] producen ácido láctico, propiónico, acético y succínico, típicos del queso tipo Palmita comercial [8]. *L. casei* es capaz de producir ácido láctico, acético y propiónico en cantidades significativas en el queso Cheddar, Manchego y Palmita [9, 10, 25, 26], además ha sido usado en cultivos iniciadores, por su gran poder proteolítico [19] y por su capacidad de producir compuestos que proporcionan sabor como el diacetilo y acetaldehído en quesos [1, 10]. Especies como *E. faecalis* también han sido reconocidas como productoras de ácido láctico y de acético a partir de lactosa [17, 18] y de citrato [13]. Especies del género *Enterobacter* además de ser productoras de ácido láctico [10, 26], liberan CO_2 , lo cual contribuye con la formación de los "ojos" típicos del queso tipo Palmita [3].

La utilización de estos microorganismos en forma de cultivos iniciadores mixtos constituidos por dichas especies ha producido quesos con características organolépticas similares a las del queso tipo Palmita comercial [3, 23]. Sin embargo, la presencia de agentes inhibidores como bacteriófagos y antibióticos, entre otros, pueden ocasionar disminución de la actividad fermentativa de dichos cultivos [14, 19]. Esta desventaja se ha corregido con el uso de cultivos iniciadores múltiples constituidos por más de una cepa de características similares o del mismo género, que aún en presencia de agentes inhibidores, la actividad fermentativa se mantiene por parte de aquellas cepas resistentes [15, 19], además de que favorecen la disminución de la variabilidad de dicha actividad fermentativa [5].

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la acidez titulable de cultivos simples con leche descremada, constituidos por cepas de *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*, con el fin de seleccionar los más productores de acidez en el caso de los enterococos y lactobacilos, y menor producción de la misma en el caso de las especies de *Enterobacter*, para luego con estas cepas constituir cultivos múltiples y determinar en ellos variaciones en su producción de acidez por efecto de interacciones entre cepas y especies. De estos cultivos, se escogerán los más adecuados para la producción de queso tipo Palmita con leche pasteurizada, a escala comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos y condiciones de los cultivos

Los microorganismos utilizados para este estudio fueron siete cepas de *L. casei* (L), once cepas de *E. faecalis* (Ef), cuatro cepas de *E. aerogenes* (Ea) y cuatro de *E. cloacae* (Ec), previamente aisladas de queso tipo Palmita comercial y escogidas en base a la producción de un perfil de ácidos orgánicos acorde con el perfil del queso tipo Palmita comercial [26]. Todas las cepas se propagaron en tubos con 10 ml de leche descremada (Karla) al 10% (p/v) esterilizados en autoclave por 12 min a 118°C e incubados durante 18 h a 35°C . A partir de estos cultivos "madres", se prepararon cultivos simples y múltiples por duplicados.

Cultivos simples

Estuvieron constituidos por cada una de las cepas antes mencionadas, en volúmenes de 100 ml de leche descremada con 2% v/v de inóculo del cultivo madre. Los cultivos se incubaron a 35°C durante 18 h.

Cultivos múltiples

Se prepararon en leche descremada al 10% con cepas que resultaron seleccionadas en base a su mayor producción de acidez para las especies de *Enterococcus* y *Lactobacillus*. En el caso de las cepas de *Enterobacter*, éstas fueron seleccionadas en base a una menor producción de acidez debido a que se ha reportado que ciertas especies producen perfiles indeseables de ácidos orgánicos como el fórmico y el acético [10, 26] que le proporcionan sabores amargos a los quesos [3].

Los cultivos múltiples resultaron constituidos de la siguiente forma:

-Cultivos con *E. faecalis* y *E. aerogenes*: Ef11Ef10Ea, Ef11Ef8Ea, Ef11Ef7Ea, Ef10Ef8Ea, Ef10Ef7Ea y Ef8Ef7Ea.

-Cultivos con *L. casei* y *E. aerogenes*: L1L2Ea y L1L3Ea.

-Cultivos con *E. faecalis*, *L. casei* y *E. aerogenes*: Ef11Ef10L1L2Ea, Ef11Ef8L1L2Ea, Ef11Ef7L1L2Ea,

Ef10Ef8L1L2Ea, Ef10Ef7L1L2Ea, Ef8Ef7L1L2Ea,
Ef11Ef10L1L3Ea, Ef11Ef8L1L3Ea, Ef11Ef7L1L3Ea,
Ef10Ef8L1L3Ea, Ef10Ef7L1L3Ea y Ef8Ef7L1L3Ea.

Los microorganismos se cultivaron en 100 ml de leche descremada (Karla) al 10% (v/v) con un inóculo del 2% para las cepas de *E. faecalis* y *L. casei* y se incubaron durante 90 min a 35°C. Posteriormente se inocularon con *E. aerogenes* en porcentajes del 0,02% y se incubaron durante 16,5 h a 35°C. Estas condiciones de cultivo son las correspondientes a las de los cultivos iniciadores utilizados en la elaboración del queso tipo Palmita con leche pasteurizada, donde participan dichas cepas [3, 23].

Determinación de acidez titulable en cultivos iniciadores simples y múltiples

Para esta prueba se titularon 10 ml de cultivo iniciador simple y múltiple con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N, utilizando como indicador 1 ml de fenolftaleína al 0,5% en solución alcohólica; la titulación culminó con la aparición de un color rosado. El valor de acidez titulable se obtuvo multiplicando los mililitros de NaOH gastados por un factor de 10 y se reporta como ml de NaOH 0,1N/100 ml de cultivo [12]. Los análisis se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

A los promedios de los valores de acidez producidos por los cultivos iniciadores simples y múltiples se le realizaron análisis de varianza (ANAVAR). Cuando el ANAVAR realizado sobre determinada variable resultó significativo, a los promedios de los tratamientos se les aplicó la prueba de múltiple rango de Duncan, lo cual permitió ubicar la significación [27].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de acidez en cultivos simples

En la TABLA I se presentan los resultados de la determinación de acidez en cultivos simples con cepas de *E. faecalis*. Allí se observa que el efecto de las cepas sobre la acidez de los cultivos es significativo ($P < 0.05$). Por otro lado, se resalta la producción activa de acidez en leche por parte de los enterococos al compararlo con un valor de acidez de 14 correspondiente al control. Esta producción activa de acidez también es resaltada por otros autores no sólo en leche sino en cultivos selectivos [19, 28]. La cepa Ef11 fue la más eficiente en su producción de acidez con un valor de 39,5 seguido de las cepas Ef10, Ef8 y Ef7 con valores de 37, 35 y 34, respectivamente.

La TABLA II muestra los resultados de la determinación de acidez en cultivos simples con cepas de *L. casei*. Se observan diferencias significativas ($P < 0.05$), con un rango menor (acidez 36,0-39,0) con respecto al observado en cultivos sim-

ples con *E. faecalis* (28,0-39,5), lo que indica que hubo menor variabilidad entre cepas de *L. casei*. Al igual que ocurrió en cultivos con *E. faecalis*, también aquí se observa una producción activa de acidez por parte de *L. casei* en comparación con el control de leche descremada sin inóculo. La variabilidad encontrada en cuanto a niveles de acidez en cultivos iniciadores simples con cepas de *Enterococcus* y *Lactobacillus* ha sido destacada por otros autores tanto en cultivos en leche [9] como en medios selectivos [10]. A pesar de que los cultivos con L3, L4 y L6 fueron los de mayores niveles de acidez, fueron seleccionadas las cepas L1 y L2 junto con L3 por ser cepas con alta resistencia a antibióticos y bacteriófagos (datos no presentados).

La TABLA III muestra los resultados de la determinación de acidez en cultivos simples con cepas *E. aerogenes* y *E. cloacae*. En ella se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) intra y entre especies. Las cepas seleccionadas correspondieron a la especie *E. aerogenes*, Ea1 y Ea2. Se tomó la decisión de no escoger cepas de *E. cloacae*, aun cuando

TABLA I

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *E. faecalis* EN CULTIVOS SIMPLES

Cepa	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
Ef1	30,0 ^{ef}
Ef2	30,0 ^{ef}
Ef3	30,5 ^{ef}
Ef4	28,0 ^f
Ef5	31,0 ^e
Ef6	31,5 ^{de}
Ef7	34,0 ^{cd}
Ef8	35,0 ^{bc}
Ef9	30,5 ^{ef}
Ef10	37,0 ^{ab}
Ef11	39,5 ^a
\bar{X}	32,5
S	3,5
% CV	10,7
Rango	28,0 - 39,5

a,b,c,d,e,f,: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$). Acidez inicial del control = 14,0

TABLA II

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *L. casei* EN CULTIVOS SIMPLES

Cepa	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
L1	37,0 ^{ab}
L2	36,0 ^b
L3	39,0 ^a
L4	38,0 ^{ab}
L5	36,0 ^b
L6	38,5 ^{ab}
L7	36,0 ^b
\bar{X}	37,2
S	1,3
% CV	3,5
Rango	36,0 - 39,0

a,b: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$) Acidez inicial del control = 14,0

hubo cepas productoras de niveles bajos de acidez (menor de 40 unidades) ya que algunas de las cepas son productoras de ácidos indeseables como el fórmico y el acético, mientras que el resto de las cepas no producen tales ácidos [26].

En general se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en cuanto a valores de acidez de los cultivos simples con cepas de *E. faecalis*, *L. casei* y los *Enterobacter*, TABLA IV. Los cultivos con *E. faecalis* resultaron con los valores más bajos de acidez. Estas diferencias fermentativas también fueron observadas en la producción de ácidos orgánicos de cadena corta por parte de dichas especies en cultivos en leche descremada [26].

Determinación de acidez en cultivos múltiples

La TABLA V muestra los resultados del contenido de acidez en cultivos múltiples con cepas de *E. faecalis* y *E. aerogenes*, con diferencias significativas ($P < 0.05$). Allí se observa que la acidez promedio igual a 50,9, resultó mayor que la aportada por cada especie en cultivos simples (32,5 y 38,1, respectivamente). Esto sugiere una interacción positiva de especies que favorece una mayor producción de acidez en cultivos en leche descremada. Por otro lado, las diferencias de acidez entre estos cultivos múltiples es posible que hayan estado determinadas en algunos casos por las cepas de *Enterobacter*, ya que en cultivos múltiples con cepas de *Enterococcus* sin *Ente-*

TABLA III

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *E. aerogenes* y *E. cloacae* EN CULTIVOS SIMPLES

Cepa	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
Ea1	30,5 ^b
Ea2	40,0 ^a
Ea3	40,0 ^a
Ea4	42,0 ^a
Ec5	31,5 ^c
Ec6	37,5 ^b
Ec7	37,0 ^b
Ec8	43,0 ^a
\bar{X}	37,7
S	4,6
% CV	12,2
Rango	30,5 - 43,0

a,b,c: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$). Acidez inicial del control = 14,0

TABLA IV

VALORES PROMEDIOS DE ACIDEZ OBTENIDOS EN LOS CULTIVOS SIMPLES

Cepa	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
<i>Enterobacter</i>	37,7 ^a
<i>L. casei</i>	37,2 ^a
<i>E. faecalis</i>	32,5 ^b

a,b: Coeficientes de diferenciación ($\alpha = 0.05$)

robacter, TABLA VI, los valores de acidez resultaron mayores que los respectivos cultivos con las cepas de *E. aerogenes* Ea1 y Ea2, TABLA V. En este caso se puede hablar de interacciones negativas entre cepas bacterianas.

En la TABLA V también se observa que el cultivo Ef11Ef8Ea a pesar de contener la cepa Ef11 la cual en cultivos simples produjo mayor cantidad de ácidos TABLA I, la combinación con Ef8 no favoreció una mayor acidez en dicho cultivo múltiple, sino todo lo contrario. El resto de los cultivos mostraron niveles similares de acidez. Se puede concluir que las ce-

TABLA V

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *E. faecalis* Y *E. aerogenes* EN CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
Ef 11 Ef 10 Ea	49,5 ^{ab}
Ef 11 Ef 8 Ea	47,0 ^b
Ef 11 Ef 7 Ea	52,5 ^a
Ef 10 Ef 8 Ea	54,0 ^a
Ef 10 Ef 7 Ea	50,5 ^{ab}
Ef 8 Ef 7 Ea	52,0 ^a
\bar{X}	50,9
S	2,5
% CV	4,9
Rango	47,0 - 54,0

a,b: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$). Acidez inicial del control = 15,0

pas se comportan de manera similar en cultivos con leche descremada.

En la TABLA VII se muestran los resultados del contenido de acidez de cultivos múltiples con cepas de *L. casei* y *E. aerogenes*. Allí se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre cultivos por efecto de las cepas. El cultivo con L1L2Ea presentó una mayor acidez. El cultivo L2L3Ea presentó bajos niveles de acidez comparado con el resto de los cultivos por lo que resultó descartada dicha combinación. En general la acidez promedio de los cultivos múltiples binarios con *L. casei* resultó menor que la acidez promedio de cultivos múltiples binarios con *E. faecalis*. Resulta concluyente que la acidez de cultivos múltiples con *L. casei* estuvo influenciada por la presencia del *Enterobacter* ya que en cultivos múltiples con solamente *L. casei*, TABLA VIII, los valores de acidez fueron bajos (promedio 37,5). En este caso se puede resaltar el beneficio de la interacción entre estas dos especies, todo lo contrario que lo observado en cultivos con enterococos. Este efecto había sido observado previamente en cultivos mixtos [3].

Las TABLAS IX y X muestran los resultados del contenido de acidez de cultivos múltiples ternarios constituidos por cepas de *E. faecalis*, *L. casei* y *E. aerogenes*, con diferencias significativas ($P < 0.05$) en cada caso. El cultivo Ef11Ef8L1L3Ea fue el que produjo mayor acidez seguido del cultivo Ef11Ef8L1L2Ea. Cabe resaltar que el cultivo binario Ef11Ef8Ea presentó valores bajos de acidez, TABLA VII, sin embargo la mezcla con L1L2 o L1L3 favoreció una mayor producción de

TABLA VI

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *E. faecalis* EN CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
Ef 11 Ef 10	60,0 ^a
Ef 11 Ef 8	50,5 ^b
Ef 11 Ef 7	52,0 ^b
Ef 10 Ef 8	49,5 ^{bc}
Ef 10 Ef 7	53,0 ^b
Ef 8 Ef 7	47,5 ^c
\bar{X}	52,0
S	4,0
% CV	7,7
Rango	47,5 - 60,0

a,b,c: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$). Acidez inicial del control = 15,0

TABLA VII

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *L. casei* y *E. aerogenes* EN CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
L1L2 Ea	55,5 ^a
L1L3 Ea	51,5 ^b
L2L3 Ea	40,2 ^c
\bar{X}	49,1
S	7,9
% CV	16,2

a,b,c: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$). Acidez inicial del control = 15,0

TABLA VIII

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *L. casei* EN CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
L1L2	39,5
L1L3	35,5
\bar{X}	37,5

Acidez inicial del control = 15,0

TABLA IX

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *E. faecalis*, *L. casei** y *E. aerogenes* EN CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
Ef 11 Ef 10 L1L2Ea	50,0 ^b
Ef 11 Ef 8 L1L2Ea	54,5 ^a
Ef 11 Ef 7 L1L2Ea	51,0 ^b
Ef 10 Ef 8 L1L2Ea	50,0 ^b
Ef 10 Ef 7 L1L2Ea	50,0 ^b
Ef 8 Ef 7 L1L2Ea	49,5 ^b
\bar{X}	50,8
S	1,9
% CV	3,7
Rango	49,5 - 54,5

*: L1L2 . a,b: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$)

acidez. Al comparar la acidez de cultivos ternarios con L2 con aquellos con L3 no se observaron diferencias significativas a un nivel del 5%.

En general no se observaron diferencias significativas a un nivel del 5% entre cultivos múltiples binarios y ternarios, TABLA XI. Esto sugiere que la combinación de las especies *E. faecalis*, *L. casei* y *E. aerogenes* en cultivos múltiples en leche descremada no induce cambios aparentes en la producción de acidez y por lo tanto no parece justificarse. Es posible que el perfil de ácidos orgánicos de cadena corta, así como los niveles de compuestos volátiles asociados al sabor de los quesos, como diacetilo y acetaldehído, determinen la selección final.

De acuerdo a los resultados obtenidos es posible utilizar cultivos iniciadores múltiples en la elaboración de queso tipo Palmita con leche pasteurizada, utilizando las cepas analizadas en este estudio, y de esta forma garantizar el desarrollo de una mayor producción de acidez que tenga su incidencia en el sabor del queso. Sin embargo, es necesario que las cepas constituyentes del cultivo iniciador múltiple sean evaluadas en su resistencia a agentes inhibidores como antibióticos y bacteriófagos, como lo resaltan varios trabajos [4, 5, 14], para que de esta forma sean utilizadas las cepas más resistentes.

TABLA X

VALORES DE ACIDEZ PRODUCIDOS POR *E. faecalis*, *L. casei** Y *E. aerogenes* EN CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
Ef 11 Ef 10 L1L3Ea	50,5 ^{bc}
Ef 11 Ef 8 L1L3Ea	56,5 ^a
Ef 11 Ef 7 L1L3Ea	53,0 ^{ab}
Ef 10 Ef 8 L1L3Ea	46,5 ^{cd}
Ef 10 Ef 7 L1L3Ea	45,5 ^d
Ef 8 Ef 7 L1L3Ea	48,5 ^{bcd}
\bar{X}	50,1
S	4,1
% CV	8,3
Rango	45,5 - 56,5

*: L1L3 . a,b,c,d: Coeficientes de Duncan ($\alpha = 0.05$)

TABLA XI

VALORES PROMEDIOS DE ACIDEZ OBTENIDOS EN LOS CULTIVOS MÚLTIPLES

Cultivo	Acidez (ml NaOH, 0,1N/100 ml)
EfEa	51,0 ^a
LEa	53,5 ^a
EfL1L2Ea	50,8 ^a
EfL1L3Ea	50,1 ^a

a: Coeficientes de diferenciación ($\alpha = 0.05$)

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) por el financiamiento otorgado y al Laboratorio de Alimentos del Departamento de Química de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, por contribuir con los materiales y equipos necesarios para el desarrollo de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Branen, A.L. y Keenan, T. W. Diacetyl and acetoin production by *Lactobacillus casei*. Appl. Microbiol. 22: 517-521. 1971.
- [2] Brito, C. Cultivos lácticos. Su influencia sobre la calidad físico-organoléptica de los quesos. Aliment. 15: 61-65. 1990.
- [3] Cabrera, L. y Ferrer, A. Evaluación de cepas de *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Enterobacter* como cultivos iniciadores para la elaboración de queso tipo Palmita Venezolano con leche pasteurizada. Rev. Científica FCV-LUZ (2): 73-78. 1994.
- [4] Daly, C. Starter culture development in Ireland. Irish J. Food Sci. Technol. 7: 39-42. 1983.
- [5] Daniell, S.D. y Sandine, W.E. Development and commercial use of a multiple strain starter. J. Dairy Sci. 64: 407-411. 1981.
- [6] Ferrer, A.; Urdaneta, D. y Rincón, Z. Evaluación físico-química y microbiológica del queso tipo Palmita Venezolano. Revista Ciencias. 4: 133-147. 1987.
- [7] Ferrer, A.; Urdaneta, D.; Rincón, Z.; Cabrera, L. y Basanta, Y. Microflora isolated from Venezuelan "Palmita-type" cheese. J. Food Prot. 54: 856-860. 1991.
- [8] Ferrer O., A. y Granados, A. Organic acids of low molecular weight in Palmita-type cheese. Food Chem. 45: 311-317. 1992.
- [9] Ferrer O., A.; Granados, A.; Basanta, Y.; Gutiérrez B. y Cabrera, L. Organic acids of low molecular weight produced by lactobacilli and enterococci isolated from Palmita-type Venezuelan cheese. Food Microbiol. 10: 1-7. 1993.
- [10] Fryer, T.F. Microflora of Cheddar cheese and its influence on cheese flavour. Dairy Sci. (Abstr.) 31: 471-490. 1969.
- [11] Fryer, T.F. Utilization of citrate by lactobacilli isolated from dairy products. J. Dairy Res. 37: 9-15. 1970.
- [12] Harrigan, W.F. y Mc Cance, M.E. Métodos de Laboratorio en Microbiología de Alimentos y Productos Lácteos. Academia León. España. 420 pp. 1979.
- [13] Hegazi, F.Z. y Abo-Elnaga, I.G. Dissimilation of organic acids by dairy lactic acid bacteria. Nahrung 34: 791-801. 1990.
- [14] Huggins, A. Progress in dairy starter culture technology. Food Technol. 38: 41-50. 1984.
- [15] Hurley, M.; Timmons, P.; Drihan, F.; Logan, T. y Daly, C. Selection and use of multiple strain starters for Cheddar cheese manufacture. Irish. J. Food Sci. Technol. 6: 210-213. 1982.
- [16] Jensen, J. Role of enterococci in Cheddar cheese, proteolytic activity and lactic acid development. J. Milk Food Technol. 38: 3-7. 1975.
- [17] Joensson, F.A. y Petterson, H.E. Aroma formation in lactic starter cultures. Nord. Mejeriindust. 4: 245-247. 1977.
- [18] Kilara, A. y Shanhami, K. Lactic fermentation of dairy foods and their biological significance. J. Dairy Sci. 61: 1793-1800. 1978.
- [19] Kosikowski, F. Cheese and fermented milk foods. 2th ed. Kosikowski & Associates. New York. 640 pp. 1978.
- [20] Lawrence, R.C.; Thomas, T.D. y Terzaghi, B.E. Reviews of the progress of dairy science: cheese starters. J. Dairy Res. 43: 141-193. 1976.
- [21] Lester, I.L. Starter: an introduction. J. Soc. Dairy Technol. 43:2-3. 1990.
- [22] Lewis, J. E. Starter manufacture at individual cheese factories. J. Soc. Dairy Technol. 30: 32-35. 1977.
- [23] Montoya, C. y Ferrer, A. Transformaciones producidas por bacterias durante la manufactura del queso tipo Palmita. Rev. Tec. Ing. L.U.Z. 12: 69-74. 1989.
- [24] Muir, D.D. Principles, products and practice. J. Soc. Dairy Technol. 43: 33-34. 1990.
- [25] Ordóñez, J.A., Barneto, R. y Mármol, M.P. Identificación de la flora que participa en la maduración del queso Manchego. Anal. Brom. 30: 361-373. 1978.
- [26] Raffe, D.J. Análisis Cromatográfico del perfil de ácidos orgánicos de cadena corta en quesos tipo Palmita elaborados con leche pasteurizada. (Trabajo Especial de Grado). Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. 82 pp. 1994.
- [27] Snedecor, G.W. y Cochran, W.G. Statistical methods. 7th. Ed. Iowa State University Press: 111-113. Iowa, U.S.A. 1967.
- [28] Tzaneva, C.H. Applications of starter cultures in the dairy industry. Dev. Ind. Microbiol. 26: 323-327. 1985.

**Scientific International Events
1996**

January

7-9	<i>International Embryo Transfer Society, Annual Conference</i>	Salt Lake City Utah - USA
23-26	<i>48th Aviar Exposition "Atlanta 96"</i>	Georgia - USA

February

3-4	<i>Small Animal Seminar on Clinical Pathology</i>	Auburn University Alabama - USA
22-23	<i>The 4th International Feed Production Conference</i>	Piacenza - Italy
24	<i>Rabbit and Ferret Symposium</i>	College Station Texas - USA
25-29	<i>International Veterinary Seminars. 2nd. Annual Caribbean Seminar in Cozumel</i>	México, D.F.

March

2-3	<i>8th Annual Hudson-Walker Theriogenology Conference</i>	Auburn University Alabama - USA
13	<i>Infectious Diseases</i>	Chicago Illinois - USA
19-23	<i>VIII Congreso Mundial Brahman</i>	Hotel del Lago Intercontinental Maracaibo - Venezuela
22-24	<i>Bovine Embryo Transfer Workshop for Veterinarians</i>	Gainesville Florida - USA
25-28	<i>International Veterinary Seminars</i>	Santa Cruz California - USA

April

Marzo

19-23	<i>VIII Congreso Mundial Brahman</i>	Hotel del Lago Intercontinental Maracaibo - Venezuela
23-27	<i>I Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos "Dr. Nikita Czyhrinciw"</i>	Hotel Caracas Hilton Caracas - Venezuela

Mayo

14-17	<i>VI Congreso Nacional de Avicultura</i>	Hotel del Lago Intercontinental Maracaibo - Venezuela
-------	---	--

Sept.-Oct.

29 - 4	<i>III Congreso de Ciencias Veterinarias</i>	Hotel Pipo Internacional Maracay - Venezuela
--------	--	---

**Eventos Científicos Nacionales
1996**