



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**



Centro Interdisciplinario de Investigación  
para el Desarrollo Integral Regional  
CIIDIR IPN Unidad Michoacán

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE  
LACTOSA EN LA CALIDAD DEL QUESO  
TIPO MANCHEGO MEXICANO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS EN  
PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

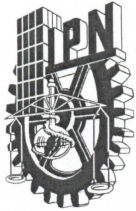
**PRESENTA:**

**PETER PAUL REYES CHAVEZ**

**DIRECTORES DE TESIS:**

**DR. JOSÉ LUIS MONTAÑEZ SOTO  
DR. NAHUM CASTELLANOS PÉREZ**

**Jiquilpan de Juárez, Michoacán; Diciembre de 2016**



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 17 del mes de Noviembre del 2016 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

“Efecto de la concentración de lactosa en la calidad del queso tipo Manchego mexicano.”

Presentada por el alumno:

Reyes

Chávez

Peter Paul

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre

Con registro:

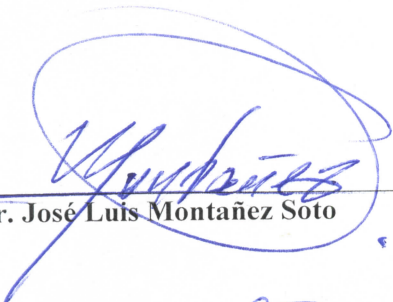
B	1	4	0	8	8	3
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:


**Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

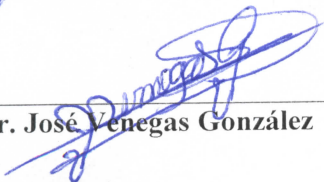
### LA COMISIÓN REVISORA Directores de tesis



Dr. José Luis Montañez Soto



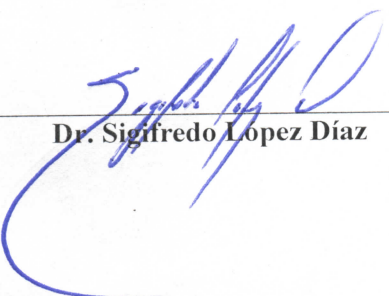
Dr. Nahúm Castellanos Pérez



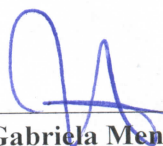
Dr. José Venegas González



Dra. Rebeca Flores Magallón



Dr. Sigifredo Lopez Díaz



Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.  
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
Instituto Politécnico Nacional  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
CIIDIR - IPN - U - MICH.



## CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Jiquilpan de Juárez Michoacán el día 10 del mes de Diciembre del año 2016, el que suscribe **Peter Paul Reyes Chávez**, alumno del Programa de **Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable** con número de registro B140883, adscrito al **C.I.I.D.I.R. I.P.N. Unidad Michoacán**, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. José Luis Montañez Soto y del Dr. Nahum Castellanos Pérez y cede los derechos del trabajo titulado **EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LACTOSA EN LA CALIDAD DEL QUESO TIPO MANCHEGO MEXICANO**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección. ([montasoto@yahoo.com.mx](mailto:montasoto@yahoo.com.mx); [paulreyesch@gmail.com](mailto:paulreyesch@gmail.com) y [nahumcastellanos@hotmail.com](mailto:nahumcastellanos@hotmail.com) ). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Peter Paul Reyes Chávez

## **AGRADECIMIENTOS**

A dios por darme la vida y los frutos que he logrado obtener durante mi camino.

A mi familia por su compañía y apoyo, especialmente a Sandra mi esposa, Scarlet y Naomi mis pequeñas hijas, quienes traen luz, fuerza y alegría a cada día de mi vida.

A mi comité tutorial de tesis en especial al, Dr. José Luis Montañez Soto, Dr. Nahum Castellanos Pérez y la Dra. Rebeca Flores Magallón, por ser guía, darme consejos y paciencia en cada etapa de mi investigación. Así como al resto de mi comité tutorial al Dr. José Venegas González, y al Dr. Sigifredo López Díaz quienes siempre se mostraron dispuestos a ayudarme y estuvieron al pendiente de mis avances, a todos ellos como profesores y personas, gracias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONACYT) por la confianza y oportunidad al brindarme el apoyo económico para la realización del posgrado mediante la beca de manutención, de igual manera a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) que mediante la Beca de Estímulo Institucional para la Formación de Investigadores (BEIFI) han permitido formarme de manera más integral en esta aventura investigativa.

A los profesores y maestros del CIIDIR IPN Unidad Michoacán por su apoyo y enseñanza durante mi paso por la maestría, gracias.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN), por la oportunidad y creer en la realización de mi proyecto y el aporte que es como institución en el país. Además de erigirse como una institución nacional de primer nivel.

## INDICE

ÍNDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 La leche	5
2.1.1 Composición de la leche	5
2.1.1.1 Proteínas de la leche	6
2.1.1.2 La grasa de la leche	7
2.1.1.3 Lactosa en la leche	8
2.1.2 Microbiota de la Leche	11
2.2 El queso	12
2.2.1 Antecedentes históricos	13
2.2.2 Clasificación de los quesos	15
2.2.3 Calidad de la leche utilizada en la elaboración de queso	16
2.2.4 Principales etapas del proceso de elaboración del queso.	17
2.2.4.1 Tratamientos previos de la leche	17
2.2.4.2 Coagulación de la leche	19
2.2.4.3 Corte de la cuajada.	20
2.2.4.4 Desuerado de la cuajada	20

2.2.4.5 Moldeado.	21
2.2.4.6 Prensado	21
2.2.4.7 Salado	21
2.2.4.8 Maduración	22
2.2.4.8.1 Factores que afectan la maduración de los quesos	23
2.2.4.8.1.1 Microbiota del queso.	24
2.2.4.8.1.2 Cultivo iniciador	25
2.2.4.8.1.2.1 <i>Lactococcus lactis</i> y subespecie <i>cremoris</i>	26
2.2.4.8.1.3 Humedad	28
2.2.4.8.1.4 Temperatura de maduración.	28
2.2.4.8.1.5 El pH.	29
2.2.4.8.1.6 Contenido de sal	29
2.2.4.8.2 Cambios que se presentan durante la maduración de los quesos	30
2.2.4.8.2.1 La proteólisis en el queso	31
2.2.4.8.2.2 Desarrollo del sabor y aroma en el queso.	32
2.2.4.8.2.3 La lipólisis en el queso.	33
2.3 Quesos mexicanos genuinos	34
2.3.1 Queso tipo manchego mexicano	36
2.3.2 Maduración del queso tipo manchego mexicano.	37
2.3.3.1 Características de calidad del queso tipo manchego mexicano	37
2.3.3.1.1 Especificaciones sensoriales	37
2.3.3.1.2 Especificaciones físicas y químicas	37
2.3.3.1.3 Especificaciones microbiológicas	38
2.3.3.1.4 Especificaciones sobre materia extraña	38

2.3.3.1.5 Contaminantes químicos	38
2.3.3.1.6 Empleo de aditivos	38
2.4 Propiedades funcionales	38
2.4.1 Extensibilidad	39
2.4.2 Tajabilidad	39
2.4.3 Rallabilidad	39
2.5 Aseguramiento de la calidad	40
2.5 Planteamiento del problema.	42
3. JUSTIFICACIÓN	44
4. HIPÓTESIS	44
5. OBJETIVOS	44
5.1 Objetivo general	44
5.2 Objetivos específicos	44
6. MATERIALES Y MÉTODOS	45
6.1 Calidad de la leche cruda	45
6.2 Materias primas	45
6.2.1 Equipo y utensilios	46
6.3 Reactivos	46
6.4.1. Diseño experimental	47
6.4.1.1 Reducción de lactosa residual	47
6.4.1.2 Enriquecimiento de lactosa	47
6.4.1.3 Elaboración de queso tipo manchego mexicano.	48
6.4.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos en el queso tipo manchego mexicano	50

6.4.2.1 Determinación de humedad	50
6.4.2.2 Determinación de proteína	51
6.4.2.3 Determinación de lactosa	51
6.4.2.4 Determinación de grasa	53
6.4.2.5 Determinación de cloruro de sodio	54
6.4.2.6 Acidez titulable	55
6.4.4 Determinación de la actividad de agua ( $a_w$ ) en el queso	55
6.5 Determinación de las propiedades funcionales del queso	56
6.5.1 Rallabilidad	56
6.5.2 Tajabilidad o rebanabilidad	56
6.5.3. Extensibilidad	57
6.6 Determinaciones microbiológicas	57
6.6.1 Determinación de Salmonella	57
6.6.2. Crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL)	57
6.7 Evaluación de la pasteurización por prueba de fosfatasa	57
6.8. Evaluación sensorial de los quesos	58
6.9 Análisis estadístico	60
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>61</b>
7.2.1 Variación del contenido de humedad	63
7.2.2 Variación de la actividad de agua	65
7.2.3 Variación del contenido de cenizas	66
7.2.4 Variación del contenido de cloruro de sodio	67
7.2.5 Variación del contenido de proteína	68
7.2.6 Variación del contenido de grasa	69



7.2.7 Variación del contenido de lactosa	70
7.2.8 Producción de ácido láctico.	73
7.2.9 Variación del pH durante la maduración.	75
7.3 Evaluación de propiedades funcionales.	77
7.3.1 Evaluación de la extensibilidad	77
7.3.2 Evaluación de la rallabilidad	78
7.3.3 Evaluación de la tajabilidad	80
7.4 Evaluación microbiológica de los quesos	82
7.4.1 Prueba de <i>Salmonella sp</i>	82
7.4.2 Evaluación del crecimiento microbiano.	82
7.4.2.1 Inoculo utilizado	82
7.5 Evaluación sensorial	86
7.6.1 Evaluación de preferencia	87
7.6.2 Evaluación de atributos	88
8. CONCLUSIONES	90
9. REFERENCIAS	92
ANEXO 1.	104
ANEXO 2.	105
ANEXO 3.	106

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción industrial de leche y derivados lácteos. (Toneladas) .....	2
Tabla 2. Variación en la composición de la leche cruda de vaca .....	5
Tabla 3. Proteínas presentes en la leche .....	6
Tabla 4. Principales ácidos grasos presentes en la grasa de la leche de vaca.....	7
Tabla 5. Especificaciones físicas y químicas del queso tipo manchego mexicano ...	37
Tabla 6 Composición de la leche utilizada en la preparación del queso .....	61
Tabla 7. Resultados de la pasteurización de la leche .....	62
Tabla 8. Correlación entre variables en los tratamientos .....	86
Tabla 9. Análisis estadístico de la variación en el contenido de humedad durante el proceso de maduración de los quesos.....	106
Tabla 10. Análisis estadístico de la variación de la actividad de agua durante el proceso de maduración de los quesos.....	106
Tabla 11. Análisis estadístico de la variación del contenido de cenizas durante el proceso de maduración de los quesos.....	106
Tabla 12. Análisis estadístico de la variación del contenido de cloruro de sodio durante el proceso de maduración de los quesos.....	107
Tabla 13. Análisis estadístico de la variación del contenido de proteína durante el proceso de maduración de los quesos.....	107
Tabla 14. Análisis estadístico de la variación del contenido de grasa durante el proceso de maduración de los quesos.....	107
Tabla 15. Análisis estadístico de la variación del contenido de lactosa durante el proceso de maduración de los quesos.....	108

Tabla 16. Análisis estadístico de la variación del contenido de ácido láctico durante el proceso de maduración de los quesos.....	108
Tabla 17. Análisis estadístico de la variación del pH durante la maduración de los quesos.....	108
Tabla 18. Análisis estadístico de la variación de la extensibilidad durante el proceso de maduración de los quesos.....	109
Tabla 19. Análisis estadístico de la variación de la rallabilidad durante el proceso de maduración de los quesos .....	109
Tabla 20. Análisis estadístico de la variación de la tajabilidad durante el proceso de maduración de los quesos .....	109
Tabla 21. Análisis estadístico del crecimiento del cultivo iniciador durante el proceso de maduración de los quesos.....	110
Tabla 22. Análisis estadístico de ordenamiento de preferencia. (DMS). .....	110

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la molécula de lactosa .....	8
Figura 2. Fermentación de la lactosa .....	9
Figura 3 Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso tipo manchego mexicano. (Silva, 2004). .....	49
Figura 4. Determinación de humedad por el método de destilación Bidwell-Sterling	50
Figura 5. Determinación de proteínas por el método de micro Kjeldahl .....	51
Figura 6. Determinación de lactosa por el método de Fehling .....	53
Figura 7. Determinación de grasa por el método de Gerber .....	54
Figura 8. Variación del contenido de humedad durante la maduración de los quesos. ....	63
Figura 9. Variación de $a_w$ durante la maduración de los quesos. ....	65
Figura 10. Variación del contenido de cenizas durante la maduración de los quesos. ....	66
Figura 11. Variación del contenido de NaCl durante la maduración de los quesos....	67
Figura 12. Variación del contenido de proteína durante la maduración de los quesos. ....	68
Figura 13. Variación del contenido de grasa durante la maduración de los quesos..	70
Figura 14. Variación del contenido de lactosa durante la maduración de los quesos. ....	71

Figura 15. Variación de la producción de ácido láctico durante el proceso de maduración de los quesos.....	74
Figura 16. Variación del pH durante el proceso de maduración de los quesos.....	76
Figura 17. Variación del estiramiento en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual. ....	77
Figura 18. Variación de la rallabilidad en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual. ....	79
Figura 19. Variación de la tajabilidad en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual. ....	80
Figura 20. Colonias del cultivo iniciador desarrolladas en placas con medio MRS y en diferentes días del periodo de maduración de los quesos. ....	83
Figura 21. Crecimiento microbiano en función del tiempo de maduración y la concentración de lactosa residual en los quesos. ....	84
Figura 22. Preferencia del consumidor en los quesos elaborados y una muestra comercial.....	88
Figura 23 Perfil de sabores y aroma de los quesos tipo manchego mexicano.....	89

## RESUMEN

La calidad de un queso como de cualquier otro alimento, se basa principalmente en cuatro factores: nutrimental, organoléptico, inocuidad y funcionalidad. El alimento requiere tener lo mejor de cada uno de estos factores para ser de óptima calidad. Uno de los ingredientes que es clave en la maduración y calidad de los quesos es la lactosa porque influye directamente en el comportamiento del cultivo iniciador ya que condiciona la utilización e hidrólisis de los componentes del queso durante la maduración.

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto que tiene la concentración de lactosa residual, sobre la calidad final del queso tipo manchego mexicano. Para este propósito, 5 tratamientos fueron usados, teniendo cada uno de ellos diferente concentración de lactosa en el queso: 3.1%, 7.7%, 10.2%, 11.2% y 13%. Se observó el comportamiento de la microbiota en cada uno de los tratamientos sobre los componentes, y como se afectan a propiedades funcionales, fisicoquímicas y características organolépticas del queso. Además de esto, se determinó la relación que existe entre los diferentes factores de calidad durante el proceso de maduración de los quesos.

Los resultados mostraron que la concentración de lactosa residual en el queso afecta el comportamiento del cultivo iniciador, tanto en el tiempo de maduración como en la calidad del producto obtenido. Se observó que al aumentar la concentración de lactosa se modifica la producción de ácido láctico por el cultivo iniciador, donde con una mayor cantidad de lactosa residual se disminuye la producción de ácido láctico por día en el queso. Esto provoca cambios en los tiempos requeridos para alcanzar una maduración óptima. También se observó que cuando la concentración de lactosa es menor a 10.2% %, la maduración del queso se alcanza dentro del periodo de tiempo esperado que es de 21 días, aunque el tiempo de maduración se extiende más días. Por lo tanto, el tiempo de maduración está en función de la cantidad de

lactosa residual presente en el queso. Los quesos se evaluaron durante 21 días de maduración y estos obtuvieron óptimas propiedades fisicoquímicas.

La evaluación sensorial de los quesos fue realizada se realizó un panel de jueces no entrenados quienes son consumidores de queso. El resultado mostró que no hubo diferencia significativa entre quesos de diferentes tratamientos, por lo que el incremento de lactosa no afecta las características sensoriales del queso, excepto cuando la concentración de lactosa fue de 13%, porque en este caso no se obtuvo un queso madurado debido a que sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales no alcanzaron el óptimo que demanda el consumidor. Esto se debe a que la maduración es incompleta y no se alcanza el pH requerido de 5.3. La razón de ello es la casi nula producción de ácido láctico, que no se debe a una inhibición del cultivo iniciador porque el análisis microbiológico mostró que existen células viables en cantidades considerables a pesar del incremento de lactosa.

Realizar modificaciones en la concentración residual de lactosa en los quesos proporciona una herramienta útil para el control de la calidad de los mismos. En este trabajo se observó que cuando las concentraciones de lactosa residual en queso son menores del 3.1%, el cultivo iniciador toma como fuente de carbono tanto a la fracción proteica como a la lactosa residual. Esto provoca hidrólisis de la proteína que genera el defecto del reblandecimiento de los quesos.

Por lo tanto, aumentar la concentración residual de lactosa en el queso permite reducir la cinética de acidificación para dar tiempo y mayor control a la maduración, y desarrollar las propiedades funcionales y fisicoquímicas de manera óptima.

## ABSTRACT

The quality of a cheese like any other food, is based mainly on four factors: nutritional, organoleptic, safety and functionality. Food requires having the best of each of these factors to be of optimum quality. One of the key ingredients in the ripening and quality of cheeses is lactose because it directly influences the behavior of the starter culture since it determines the use and hydrolysis of cheese components during ripening.

The aim of this study was to know the effect of the residual lactose concentration on the final quality of the Mexican Manchego. For this purpose, 5 treatments were used, having each one of them different concentration of lactose on the cheese: 3.1%, 7.7%, 10.2%, 11.2% and 13%. It was observed the behavior of the microbiota in each of the treatments on the components, and how they affect functional, physicochemical and organoleptic properties in the cheese. Besides that, it was determined the relationship that exists between the different quality factors during the ripening process of the cheeses.

The results showed that the concentration of residual lactose in the cheese directly affects the behavior of the starter culture, both in the ripening time and in the product obtained. It was observed that by increasing the concentration of lactose, the production of lactic acid is modified by the starter culture, where with a greater amount of residual lactose the lactic acid production per day in the cheese is reduced. This causes changes in the times required for achieving an optimum ripening. It was also observed that when the lactose concentration is less than 10.2% allows ripening within the expected 21 days ripening period, although the time ripening is extended more days. Therefore, ripening time is in function of the amount of residual lactose present in the cheese. Cheeses were evaluated during 21 days of ripening and these obtained optimum physicochemical properties.

The sensory evaluation of cheeses was performed by a panel of untrained judges who are consumers of cheese. The result showed that there was no significant



difference between cheeses of different treatments, so that the increase of lactose does not affect the sensorial characteristics of the cheese, except when the concentration of lactose was 13%, because in this case a ripened cheese was not obtained due to its physicochemical and sensorial properties did not reach the optimum that the consumer demands. This is due to the fact that the ripening is incomplete and the required pH of 5.3 is not reached. The reason for this is the almost null production of lactic acid, which is not due to an inhibition of the starter culture since the microbiological analysis showed that exist viable cells in considerable amounts despite of the increase of lactose.

Making modifications in the residual concentration of lactose on the cheeses provides a useful tool for the control of the quality of the same. In this work it was observed that when the residual lactose concentrations in cheese are less than 3.1%..The starter culture takes as carbon source both the protein fraction and residual lactose. This causes hydrolysis of the protein that is the main cause of the softening defect of the cheeses.

Therefore, increasing the residual lactose concentration in the cheese allows reducing the kinetics of acidification to give time and greater control to the ripening, and the development of functional and physicochemical properties optimally..

# 1. INTRODUCCIÓN

A través de los años la elaboración de queso en México se adaptó al gusto particular de los pobladores del país, lo que dio origen a la elaboración de quesos propios y originales como el queso Chihuahua, Oaxaca, y Cotija, con sabores únicos y de gran predilección por el mexicano. La preferencia de ciertos sabores influye en los productos que se comercializan, ello ocasiona que productos con éxito en otro país, con sabores diferentes, es posible que no sean del gusto de la población mexicana, ejemplo de esto son algunos quesos que tienen gran éxito en México son el queso tipo Manchego, y el queso tipo Gouda, no así los quesos Roquefort, Provolone, y Blue, que poseen gran éxito en Europa, pero en nuestro país son muy poco (Grass-Ramirez y Cesín-Vargas, 2014).

La producción de leche de bovino en nuestro país es muy variable y depende de aspectos tecnológicos, agroecológicos y socioeconómicos, además, otra característica que influye es la diversidad de climas regionales, así como características de tradiciones y costumbres de las poblaciones que producen y consumen productos lácteos. Durante el período del 2005 al 2011, la producción nacional de leche de bovino ha tenido una tasa media de crecimiento de 1.3% (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2015).

Los productos lácteos como son los quesos y los yogurts, así como las leches industrializadas: pasteurizada, ultrapasteurizada y en polvo, ocupan los primeros lugares de comercialización manifestando una tendencia hacia el abastecimiento de las zonas urbanas, ya que estas poseen vías de comunicación accesibles y concentran grupos con niveles de ingreso más altos, en contraste con las zonas no urbanas, donde el consumo de lácteos se limita principalmente a leche bronca y productos artesanales.

La producción de leche y derivados lácteos en México en el periodo comprendido entre los años 2005 al 2011 se muestra en la Tabla 1. Podemos observar que tanto el consumo de queso como el consumo de yogurt, mantequilla y leche en polvo, se ha incrementado considerablemente en el periodo analizado (Secretaria de Economía, 2012).

**Tabla 1. Producción industrial de leche y derivados lácteos. (Toneladas)**

Producto	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	Var % 11/10	TMC 11/05
Leche									
Pasteurizada	3049.7	2978.9	2871.6	2834.9	2811.9	2791.1	2742.7	-1.7	-1.5
Ultrapasteurizada	1448.7	1512.9	1601.6	1748.9	1790.3	1650.3	1482.0	-10.2	0.3
Yogurt	447.7	448.9	637.1	632.7	647.6	706.3	730.9	3.5	7.3
Crema natural	158.0	202.6	216.8	137.2	139.3	136.5	140.6	3.0	-1.7
Leche en polvo	207.5	225.6	253.0	247.8	237.3	248.1	239.2	-3.6	2.1
Quesos	187.4	202.6	229.5	239.4	255.7	275.3	275.5	0.0	5.7
Mantequilla	36.1	36.0	37.5	36.2	35.1	40.6	43.0	6.0	2.5

Fuente: Secretaria de economía (2012).

La elaboración de queso en la región de la Ciénega de Chapala lleva más de 400 años y se ha visto limitada a la producción casi exclusiva de queso Cotija, el cual se elabora en forma artesanal y de pequeña escala, desafortunadamente la mayoría de los conocimientos que poseen los productores artesanales son empíricos y limitan o impiden mejorar y generar nuevos productos, pero en cuanto a fabricación de quesos madurados fundibles, no se ha observado avance debido a que estos quesos requieren de un proceso de elaboración y afinado especial (Pomeón, 2007).

Los productores de la región no consiguen una calidad que permita asegurar un queso madurado aceptable en el mercado, la solución para el avance de este sector está en que se requiere incorporar técnicas conducentes a mejorar los procesos de manufactura del queso (Pomeón, 2007). Una meta para los productores artesanales y microempresarios es lograr la mejor calidad posible en sus productos, para lograrlo se requiere hacer investigación y conocer el proceso de una forma científica (Shakeel-Ur, Waldron, y Fox, 2004).

La lactosa es un componente clave de los productos lácteos por varias razones, una de ellas es que define la dulzura o lo insípido de un queso; además, es el sustrato principal del cultivo iniciador integrado por lactobacilos, así como de los microorganismos probióticos que son utilizados en el proceso de maduración de los quesos. Por otro lado la concentración de lactosa puede ser una señal de buena calidad en el producto, cuando esta es fermentada por los microorganismos del cultivo iniciador, o bien, puede convertirse en un riesgo para la calidad del mismo, cuando esta es fermentada por microorganismos no deseados (microflora alterante o patógenos). Actualmente se considera que la calidad de un queso está dada por su composición, inocuidad, características organolépticas y recientemente si contiene algún probiótico (Shakeel-Ur *et al.*, 2004).

Debido a factores tales como la estación del año, alimentación y raza del ganado, el contenido de lactosa en la leche bovina varía de 3.6% a 5.5%, mientras que en el queso, la concentración de lactosa residual varía desde menos de 1% y hasta un 6%, dependiendo esencialmente del proceso de elaboración y tipo de queso. (Alais y Godina, 1985). Los microorganismos ácido-lácticos, que consumen la lactosa son responsables del sabor, textura y olor de los quesos Shakeel-Ur *et al.* (2004) observaron que al modificar el contenido de lactosa en el proceso de elaboración de queso cheddar, se presentan diversos efectos en la composición, grado de proteólisis y en la cuenta de bacterias del queso madurado.

De acuerdo con datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI, 2015) en México existen aproximadamente 4 millones 15 mil unidades empresariales clasificadas dentro de la pequeña y mediana industria (PYMES). Este sector genera el 72% del empleo y el 52% del Producto Interno Bruto (PIB) de nuestro país. El problema principal de las PYMES estriba en la variabilidad de la calidad de sus productos y a su lenta adaptación y evolución de los mercados, razón por la que algunos sectores parecen estar destinados a desaparecer (Promexico.org, 2015). Por otra parte la mejora en la elaboración de un producto en una comunidad,

contribuye a la continuidad de su comercialización así como el mantenimiento de empleos, residencia de personas, y riqueza de la región (Crespo, Réquier-desjardins, y Vicente, 2014).

Para realizar una transición y complementación del conocimiento empírico del queso, a un conocimiento más tecnificado y científico, se requiere hacer una investigación documental sumada a condiciones experimentales del lugar de trabajo o elaboración de queso, buscando aumentar el conocimiento y realizar un manejo científico y racionalizado de los pasos y procesos.

Según la humedad residual y tipo de queso, las pequeñas variaciones de lactosa residual afectan la calidad del queso, en sus propiedades de composición, textura y sabor. Esto se debe a que durante la fermentación, la lactosa residual se transforma en ácido láctico, creando un descenso significativo en el pH del queso. Por otra parte, no toda la lactosa residual suele fermentarse en los quesos madurados, ya que además de la lactosa, las bacterias pueden utilizar como sustrato la porción proteica o lipídica, esto implica que las variaciones en la concentración de lactosa, no inhiben el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, ni de bacterias no ácido lácticas, pero si afectan fuertemente la calidad del queso.

En el presente trabajo buscó conocer el efecto de la concentración de lactosa en el queso tipo manchego mexicano y entender cómo se afecta la calidad de éste en función de la lactosa residual.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 La leche

La leche es la secreción nutritiva de color blanco mate y ligeramente viscosa, producida por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos. Su función es nutrir a los hijos hasta que puedan digerir otros alimentos. Las sustancias contenidas en la leche le proveen de energía y materiales de construcción para el crecimiento, también proporciona anticuerpos que le protegen contra infecciones del lactante (Byland, López-Gómez, y Madrid, 2003).

Otra definición dice que la leche es la secreción de las glándulas mamarias, sin calostro y sin substracción alguna de sus componentes, es una emulsión de glóbulos grasos y una suspensión de micelas de caseína (compuesta de Calcio, Caseína y Fósforo), toda ésta suspendida en una fase acuosa la cual contiene lactosa, proteínas del suero, algunas sales y minerales (Evers J.M., Wightman L.M., Crawford R.A., Contarini G., Coors D.C., Farrington J., y Nicolas M., 2000) y (NOM-155-SCFI-2003).

#### 2.1.1 Composición de la leche

Los principales constituyentes de la leche son: agua, grasa, proteínas, lactosa y sales minerales (Tabla 2). También contiene trazas de otras sustancias como pigmentos, enzimas, vitaminas y fosfolípidos y sales (Byland *et al.* , 2003).

**Tabla 2. Variación en la composición de la leche cruda de vaca**

Constituyente	Intervalo de variación (%)	Valor medio (%)
Agua	85.5 – 89.5	87.5
Sólidos totales	10.5 – 14.5	12.5
Grasa	3.2 – 3.8	3.5
Proteínas	2.8 – 4.0	3.4
Lactosa	3.9 – 5.7	4.8
Minerales	0.6 – 1.0	0.8

Fuente:(Alais y Godina, 1985)

Las cantidades de los diversos componentes y las características físico-químicas que presenta la leche, pueden variar considerablemente en vacas de diferentes razas, e incluso en vacas de la misma raza, puesto que se ven influenciadas por factores tales como el curso del período de lactación, la alimentación y la edad del animal, así como el estado de salud y el curso de su tratamiento, la temperatura ambiente y hábitos de ordeña. Es por ello que sólo se pueden especificar intervalos de valores límite para esas variaciones (Byland, 2003). Al residuo que queda cuando el agua y los gases son eliminados, se le conoce con el nombre de extracto seco total (EST) o sólidos totales de la leche. Además de los sólidos totales o extracto seco total, el término sólidos no grasos (SNG) o extracto seco magro (ESM), es ampliamente utilizado cuando se habla de la composición de la leche. Los sólidos no grasos es el contenido total de sólidos con excepción de la grasa; es decir:  $12.5 - 3.5 = 9.0\%$  (Alais, 2001).

### 2.1.1.1 Proteínas de la leche

En la leche se encuentra una gran diversidad de proteínas (Tabla 3), la mayor parte de ellas se encuentra en pequeñas cantidades, siendo el grupo de las caseínas las más abundantes, seguido por las proteínas del suero y finalmente por las proteínas que integran los glóbulos grasos. Las caseínas son la parte proteica que se insolubiliza por la acción de la renina o quimosina, en el proceso de elaboración de queso y forman la matriz del queso (Byland *et al.*, 2003).

**Tabla 3. Proteínas presentes en la leche**

Caseínas	%	Seroproteínas	%
$\alpha_{s1}$ -caseína	30.6	$\alpha$ -lactoalbúmina	3.7
$\alpha_{s2}$ -caseínas	8.0	$\beta$ -lactoglobulina	9.8
$\beta$ -caseína**	30.8	Albumina del suero sanguíneo	1.2
$\kappa$ -caseína	10.1	Inmunoglobulinas	2.1
Total caseína	79.5	Otras proteínas	2.4
		Total de seroproteínas	19.3
Proteína en leche		Proteínas de la membrana del glóbulo graso	1.2
3.27 g/L			

Fuente: (Byland., 2003)

### 2.1.1.2 La grasa de la leche

Visto al microscopio, la grasa de la leche está constituida por una gran cantidad de glóbulos de tamaño variable que se encuentran flotando libremente en la leche, donde cada uno está rodeado de una delgada membrana integrada por proteínas y fosfolípidos. Los glóbulos de grasa son las mayores partículas presentes en la leche, sus dimensiones oscilan entre 0.1-20  $\mu\text{m}$ , por lo que se tienen de 3000 a 4000 millones de glóbulos grasos en 1 mL de leche entera (Byland *et al.*, 2003).

La grasa de la leche está compuesta por un 98% de triglicéridos, de 0.5 a 1% de fosfolípidos, y el restante 1% son sustancias no solubles en agua. Los triglicéridos están integrados por diversos ácidos grasos, entre ellos destacan los que se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4. Principales ácidos grasos presentes en la grasa de la leche de vaca**

Ácido graso	Número de átomo de carbono	Proporción (%)
Butírico	C4	5 a 6
Caproico	C6	5 a 6
Caprílico	C8	5 a 6
Cáprico	C10	5 a 6
Láurico	C12	5 a 6
Mirístico	C14	10
Palmítico	C18	10-30
Araquídico	C20	1
Decanoico	C10	5
Oleico	C18	25
Vaccínico	C18	5
Linoleico	C18	1
Linolénico	C18	0.5
Araquidónico	C20	0.3

Fuente:(Alais y Godina, 1985)

En el queso la grasa juega un papel importante en el proceso de maduración, su lipólisis genera varios compuestos de sabor y aroma, además de que dificulta la proteólisis de las caseínas, es por ello que un queso reducido en grasa sufre una mayor y más rápida proteólisis. Por otro lado en los quesos fundibles la grasa

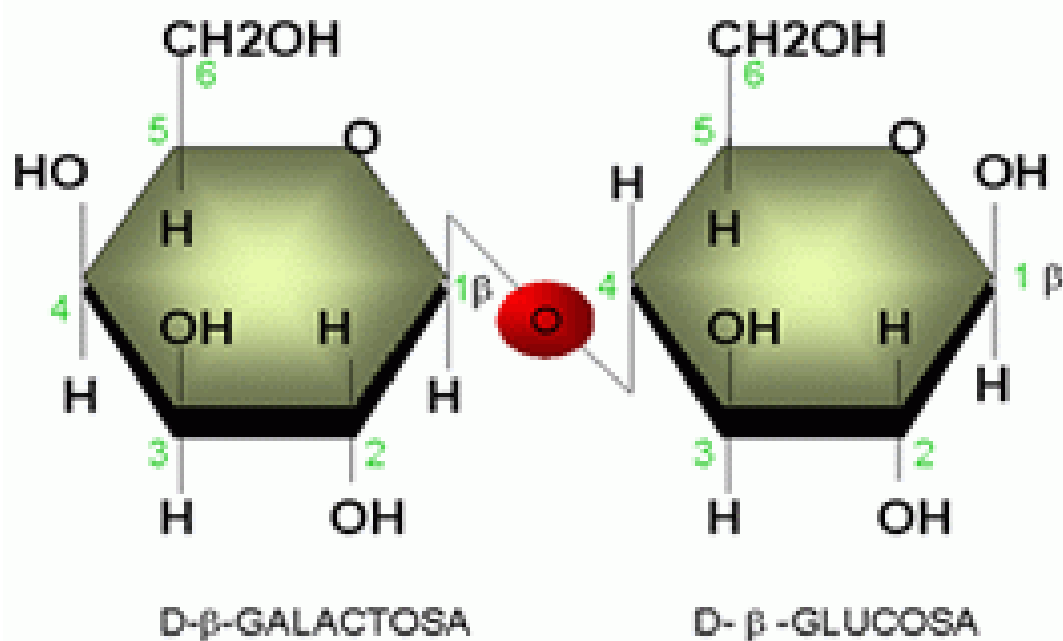


contribuye al hilado, al funcionar como lubricante entre las diferentes capaz de la matriz proteica, aunque el aumento de grasa va reduce la rigidez y elasticidad de la matriz proteica (Bähler, Ruf, Samudrala, Schenkel, y Hinrichs, 2015).

### 2.1.1.3 Lactosa en la leche

La lactosa es un disacárido integrado por una molécula de glucosa y otra de galactosa (Figura 1), representa en la leche de vaca cercan del 4.8%. Al elaborar el queso la mayor parte de lactosa se pierde en la fase acuosa del suero, debido a su gran solubilidad en agua, quedando en el queso solamente una cantidad residual de alrededor del 2% aunque esa cantidad varía según el proceso utilizado, por lo que puede ser mucho menor (Guimaraes, Teixeira, y Domingues, 2010).

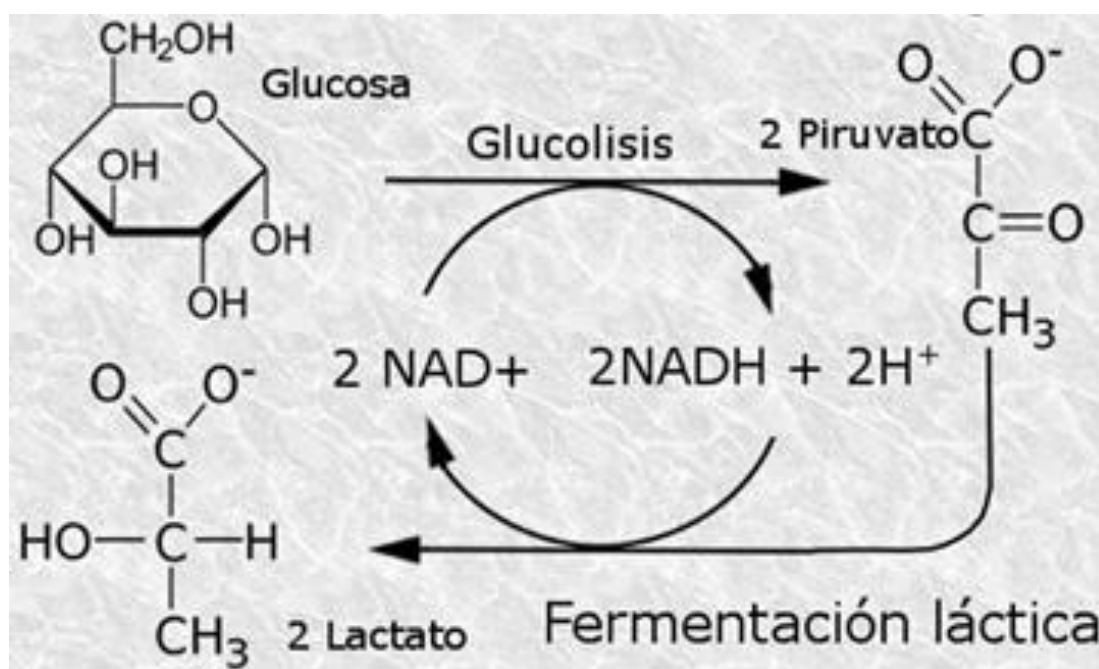
En la maduración la lactosa residual es convertida en ácido láctico en el queso, esta acidificación tiene un efecto en el desarrollo de la maduración y afecta todas las características de textura y propiedades funcionales del queso (Hou, Hannon, McSweeney, Beresford, y Guinee, 2012).



**Figura 1. Estructura química de la molécula de lactosa**

Fuente: <https://culturapensamientoysalud.blogspot.mx/2013/06/dado-que-hemos-estado-hablando-de-las.html>

Para que un alimento lácteo sea comercializado como reducido o libre en lactosa, deberá tener una concentración de lactosa menor de 10 mg por 100 g de producto (<0.01% (m/m) (Erich *et al.* , 2015). La reducción de lactosa en algunos alimentos lácteos puede ser beneficiosa, ya que, por un lado hace posible que las personas intolerantes a este disacárido, puedan consumir productos reducidos o libres de lactosa, aunque por el otro en algunos lácteos su hidrólisis genera glucosa y galactosa, monosacáridos que posteriormente son fermentados y convertidos en ácido láctico (Figura 2). La fermentación de los productos lácteos es un proceso ampliamente utilizado en, especialmente en la elaboración de quesos y las leches fermentadas como el yogurt.



**Figura 2. Fermentación de la lactosa**

Fuente: <http://www.bionova.org.es/biocast/tema16.htm>

La fermentación láctica es una ruta metabólica anaeróbica que ocurre en el citosol de las células en la cual se oxida parcialmente la glucosa para obtener energía y donde el producto de desecho es el ácido láctico. Por otra parte, a pesar de que la lactosa es el principal sustrato para la microbiota en el queso, no toda la lactosa suele

fermentarse hasta agotarse, esto es debido a que en la leche, existen otros sustratos que pueden ser utilizados por las bacterias; lo anterior, es de relevancia para la producción de queso, debido a que, si hay crecimiento de bacterias diferentes al cultivo iniciador, éstas suelen ser heterofermentativas además, degradan las proteínas y/o las grasas, produciendo aromas y sabores que pueden ser un atributo o defecto de calidad, según el metabolito producido. En muchas ocasiones la producción de metabolitos por bacterias no lácticas, es aleatoria y no se puede controlar. (Byland *et al.*, 2003).

Shakeel-Ur *et al.* (2004) estudiaron que las variaciones en las concentraciones de lactosa, no inhiben el crecimiento de las bacterias ácido lácticas (BAL), ni de las bacterias no ácido lácticas (NSBAL), pero si afectan la calidad del queso. Por ejemplo, observaron que a una concentración de 0.25% de lactosa en el queso, las bacterias del cultivo iniciador producen menos ácido láctico, pero causan mayor proteólisis de caseína en la matriz del queso. Por otra parte, cuando los niveles de lactosa en el queso, son cercanos al 2.2% se observa una rápida y gran producción de ácido láctico y una menor proteólisis de la caseína (Shakeel-Ur *et al.*, 2004). Pero cuando la concentración de lactosa en el queso es muy alta (aproximadamente 14%), se producen cristales de lactosa que afectan las propiedades funcionales, rallabilidad, tajabilidad y extensibilidad del queso, lo cual suele ocurrir cuando se utilizan formulaciones que incluyen leche descremada en polvo (45 a 53% de lactosa) o derivados de suero ricos en lactosa (Johnson, 2000).

Estudios realizados sobre los tiempos de maduración en queso cheddar, a diferentes concentraciones de lactosa, mostraron que a bajas concentraciones de lactosa (0.25%) y en 30, 60 y 120 días de maduración los quesos no alcanzaban un nivel de óptimo de maduración y propiedades sensoriales, solamente hasta los 180 días, se percibían como madurados pero aun así faltos de sabor (Shakeel-Ur *et al.*, 2004). Aunque según Hou, Hannon, Mcsweeney, Beresford, y Guinee. (2014) la disminución de sabor en un queso madurado con baja concentración de lactosa, se

debe a la pérdida de compuestos volátiles responsables del sabor, los cuales se diluyen por la técnica de eliminación de lactosa, la cual consiste en lavar la cuajada mediante una sustitución de suero por agua tibia, provocando extracciones de lactosa del interior de la cuajada. Por otro lado, un queso con concentraciones de lactosa arriba del 2.2%, presenta una disminución rápida de pH, y a los 30 días, los quesos ya se observan como maduros, pero con un ligero sabor amargo (Shakeel *et al.*, 2004).

### **2.1.2 Microbiota de la Leche**

La cantidad de microorganismos que pueden estar presentes en la leche fresca de vaca es muy amplia, esto se debe al alto valor nutricional de la leche, a una gran cantidad de agua disponible y a un pH cercano a la neutralidad. La leche segregada en la ubre es virtualmente estéril, pero incluso antes de abandonarla es infectada por bacterias que entran a través del canal del pezón. Estas bacterias son normalmente inofensivas y reducidas en número; sólo unas pocas decenas o centenares por mililitro. Sin embargo, en caso de inflamación bacteriana de la ubre (mastitis), la leche está fuertemente contaminada con bacterias, haciéndola inadecuada para su consumo. Durante su manejo en la granja, la leche está sujeta a contaminación por varios microorganismos, el grado de infección y la integración de la contaminación bacteriana dependen de la limpieza del entorno de la vaca, así como de la limpieza de la superficie de los utensilios que entran en contacto con la leche e incluso, la higiene y salud del personal que entra en contacto directo con el proceso de ordeña (Byland *et al.*, 2003).

Entre los principales grupos de bacterias que se encuentran en la leche tenemos: bacterias; ácido-lácticas, coliformes, ácido-butíricas, bacterias ácido-propiónicas, y bacterias de la putrefacción. Entre las principales bacterias presentes en la leche se encuentran: *Lactococcus sp*, *Lactobacillus sp*, *Streptococcus* y *Propionibacterium*, varias cepas incluso son usadas en las fermentaciones lácteas, algunos considerados como probióticos son del genero *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*.

Aunque también es común encontrar algunos otros microorganismos de los géneros *Pseudomona*, *Clostridium*, *Bacillus* y otros. De igual forma son comunes diversos mohos y levaduras que causan deterioro a los productos lácteos, además de que suelen encontrarse patógenos como *Listeria*, *Salmonella*, *E. coli*, y *Campylobacter* incluso, algunos mohos que producen micotoxinas (Quigley *et al.* , 2013).

La calidad microbiológica de la leche y los productos que con ella se elaboran, está influenciada por la cantidad y tipo de microorganismos presentes en la leche cruda, las condiciones de procesamiento, así como la contaminación cruzada post-pasteurización. La diversidad microbiológica en la leche cruda es considerada esencial para la riqueza sensorial y la variedad de los quesos tradicionales, aunque algunos microorganismos son los responsables de los defectos en los quesos, e incluso otros pueden representar un riesgo a la salud de los consumidores (Robinson, 2005) .

Debido a sus propiedades benéficas, las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen el grupo de microorganismos más importantes presentes en la leche, son las encargadas de la fermentación de la lactosa y por ende, de la producción de ácido láctico y disminución del pH. Las bacterias pueden ser homofermentativas o heterofermentativas según la producción de metabolitos, cuando son bacterias homofermentativas producen casi exclusivamente ácido láctico y cantidades mínimas de otras sustancias, mientras que las heterofermentativas además del ácido láctico producen cantidades apreciables de otros metabolitos (Axelsson, 2004)

## **2.2 El queso**

El queso es un alimento que se obtiene por coagulación de las proteínas de la leche, principalmente caseína, seguido de un cortado, desuerado, salado, moldeado y prensado. Dependiendo del tipo de queso dicho proceso permite conservar las características nutrimentales de la leche por un periodo más o menos prolongado,

debido a la disminución de una gran cantidad de agua (Amiot, 1991; Beresford *et al.*, 2004).

Desde el punto de vista nutricional, el queso es considerado como un alimento nutritivo ya que contiene todos los aminoácidos esenciales para el ser humano, También constituye una fuente importante de vitaminas (excepto la vitamina C, ya que se destruye en el proceso de fabricación) y minerales (calcio, hierro, fósforo, etc.) que sirven para el mantenimiento de la salud, además de ser una buena fuente de ácidos grasos esenciales Su aporte energético es importante y varía de acuerdo al contenido de grasa en la leche empleada en su elaboración. Generalmente, en la leche de vaca el 2% del total de ácidos grasos corresponde a ácidos grasos poliinsaturados, y el 70% a ácidos grasos saturados. Adicionalmente el queso es considerado como un alimento adecuado para las personas intolerantes a la lactosa, ya que dicho azúcar se pierde casi en su totalidad durante el proceso de elaboración y maduración de los quesos (Haug, Høstmark, y Harstad, 2007)..

El potencial de la leche para ser utilizada en la elaboración de queso, está determinada por tres factores que son: su contenido de proteínas coagulables (caseínas), su contenido de materia grasa y su calidad sanitaria y microbiológica. De estos, el principal factor es el contenido de caseínas, las cuales, mediante la acción del cuajo y la acidez, retienen prácticamente toda la grasa en el queso. El contenido de grasa es también importante porque contribuye al desarrollo de las características organolépticas y a la conservación de los quesos. Finalmente, el empleo de leche de daña la calidad microbiológica tiene como consecuencia la degradación parcial de grasas y proteínas, lo que ocasiona una disminución de la calidad y el rendimiento en la producción de quesos (Cunningham, 2003).

### **2.2.1 Antecedentes históricos**

En registros muy antiguos transmitidos por algunas civilizaciones a través de los siglos, la fabricación del queso data de hace más de 4.000 años. Una antigua

leyenda que la coagulación de la leche ocurrió de manera accidental, la leyenda menciona que un mercader árabe guardó leche para su viaje a través del desierto, dentro de una bolsa confeccionada con el estómago de una oveja. Durante el trayecto ocurrió la coagulación de la leche, provocando su separación en dos fases, cuajada y suero, fenómeno que fue atribuido a una combinación del cuajo contenido en el revestimiento de la bolsa, así como al intenso calor del desierto.

En vista de las ventajas obtenidas por el aumento de vida útil de este nuevo producto derivado de la leche, los conocimientos para su elaboración fueron transmitidos a las diferentes culturas, sufriendo cambios y adaptaciones al gusto de cada una de ellas, hasta llegar a ser uno de los productos lácteos predilectos en el mundo. La forma en que se dispersó el conocimiento de la elaboración de los quesos se cree que fue a través de los viajeros procedentes de Asia, quienes llevaron el arte de hacer queso a Europa, de donde saltó al Continente Americano y al resto del mundo (Amiot *et al.*, 1991)

Como consecuencia de las diferentes condiciones y variables que con el tiempo se fueron introduciendo en el proceso de elaboración de queso en los diferentes países y regiones, actualmente se producen entre 400 y 1000 diferentes tipos de quesos en todo el mundo. Entre las principales condiciones tecnológicas se incluyen: fuente y composición de la leche, condiciones de coagulación, agente coagulante, el cocinado y corte de la cuajada, tipo de cultivos iniciadores, el tratamiento que reciba la cuajada, las condiciones de maduración y la eventual adición de diversos ingredientes (Fernandez, 2000).

La elaboración de quesos en México se inició con la llegada de los primeros hatos de ganado vacuno y caprino, así como de los artesanos españoles que elaboraron queso en las diferentes regiones de nuestro país, donde se volvió una tradición y parte de la vida cotidiana en las zonas rurales, convirtiéndose el queso en un alimento muy comercializado entre las zonas rurales y urbanas. Con el paso del

tiempo, la elaboración del queso se adaptó e incorporó a los platillos, costumbres, sabores y texturas propias de cada región, creando así los quesos mexicanos genuinos (Grass-Ramirez y Cesín-Vargas, 2014).

### **2.2.2 Clasificación de los quesos**

Resulta muy difícil tratar de clasificar todos los tipos existentes de quesos, debido a que existen zonas de solapamiento y por ello, su clasificación se realiza mediante la aplicación de los siguientes criterios (Byland *et al.*, 2003).

**a) Contenido de humedad.** De acuerdo con su contenido de humedad los quesos se pueden clasificar en duros, semiduros, blandos y frescos. El contenido de humedad en los quesos duros oscila entre un 20 a un 40%, ejemplo de ellos son los quesos Parmesano, Emmental, Cheddar, Manchego muy curado, Gruyere, Edam y Cotija. En los quesos semiduros se incluyen una serie de tipos muy diferentes entre sí, como son los de pasta azul (Roquefort, Danablu, Cabrales, etc.), otros como Tilsit y Saint Paulin y el Manchego curado, etc. Los quesos blandos (Camembert, Brie, etc.) son aquellos que tienen un alto contenido en humedad y se deben consumir pronto, ya que al endurecerse pierden sus más agradables características. Los quesos frescos son aquellos que tienen un alto contenido en humedad, por lo que suelen tener sabor a leche fresca o leche acidificada. Estos quesos deben consumirse en pocos días y su transporte y conservación se deben hacer a temperaturas de 2-10°C. Entre estos quesos se encuentran los quesos Cottage, Villalón, Burgos, Gervais, etc. (Silva, 2004).

**b) Método de coagulación.** De acuerdo a la forma de coagular la caseína durante el proceso de elaboración, los quesos se clasifican como aquellos coagulados al cuajo y los quesos de coagulación ácida, aunque también se tienen quesos en donde la coagulación se lleva a cabo por ambos métodos.



**c) Principales microorganismos utilizados en su maduración.** La mayor parte de los quesos son madurados mediante la acción de bacterias ácido-lácticas; sin embargo, existen también algunos tipos de quesos que son madurados por la acción de otros microorganismos. Por ejemplo, los quesos Tilsit, Port Salut, y St. Paulin son sometidos a una maduración final por microorganismos extendidos sobre sus superficies. Los quesos azules como el Roquefort y el Gorgonzola utilizan mohos azules y el queso Camembert utiliza mohos blancos en su maduración.

**d) Textura del queso.** De acuerdo a su textura, los quesos se clasifican en quesos de ojos redondeados (Gouda), granulares (Tilsit), y quesos de textura cerrada (Cheddar). Los ojos o agujeros en los quesos se forman por la actividad de ciertas bacterias ácido-lácticas que durante el proceso de maduración producen anhídrido carbónico como subproducto de su fermentación, quedando el anhídrido carbónica en los intersticios del coágulo (Byland *et al.*, 2003).

### **2.2.3 Calidad de la leche utilizada en la elaboración de queso**

La leche utilizada para la elaboración de los quesos debe ser de buena calidad, además de los niveles normales de higiene requeridos, la leche debe estar libre de antibióticos, los cuales destruirían los microorganismos utilizados en la maduración de los quesos, también debe evitarse la leche calostrada y la procedente de animales enfermos, ninguna debe emplearse en el proceso. La propiedad más importante de la leche utilizada para la elaboración de quesos, estriba en su capacidad de coagular al mezclarse con el cuajo, así como la capacidad del coagulo formado para eliminar el suero. Estas propiedades pueden mejorarse hasta cierto punto, mediante la adición de cloruro de calcio, o mediante una maduración previa de la leche; sin embargo, el almacenamiento en frío, así como los tratamientos mecánicos o térmicos fuertes, perjudican las características generales de la leche para elaborar quesos (Silva, 2004).

## 2.2.4 Principales etapas del proceso de elaboración del queso.

### 2.2.4.1 Tratamientos previos de la leche

Entre los tratamientos previos a la coagulación de la leche se tienen los siguientes: clarificación, normalización de la grasa, pasteurización e incorporación de aditivos tales como cloruro de calcio, colorantes, etc. (Byland *et al.*, 2003).

**Clarificación.** Mediante la clarificación de la leche se eliminan algunas materias extrañas y microorganismos, la mayor parte de los cuales puede causar problemas de calidad en los quesos si no son eliminados previamente.

**Estandarización.** Debido a que los quesos a menudo se clasifican de acuerdo a proporción de grasa en el contenido total de sólidos, la grasa de la leche debe ajustarse previamente para lograr el contenido graso requerido en el queso. El contenido de grasa debe guardar siempre una determinada relación con el contenido de caseína de la leche entera, por lo que la proporción entre la grasa y la caseína debe ser normalizada hasta el valor requerido.

**Pasteurización.** El principal objetivo de la pasteurización consiste en destruir las bacterias patógenas que pueden estar presentes en la leche. Entre ellos están: *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Brusella sp*, *Bacillus cereus*, *Campilobacter jejuni*, entre otros; los cuales ocasionan severos daños a la salud. Por otro lado, la pasteurización de la leche debe ser lo suficientemente intensa como para matar las bacterias que interfieren con el proceso de coagulación de la caseína. La pasteurización se aplica también por razones técnicas como la de destruir (al menos en parte), la flora indeseable presente en la leche, la cual puede ocasionar defectos en el queso, así como el desarrollo de sabores indeseables en el mismo. De esta forma, al pasteurizar la leche la fermentación ocurre de manera regular y son más fáciles de controlar y por lo tanto, se obtienen productos de calidad uniforme. Por otra parte, durante la pasteurización se destruyen algunas sustancias antibacterianas que pueden estar presentes en la leche cruda, lo cual favorece el

desarrollo de algunas cepas de bacterias lácticas que son sensibles a estas. La pasteurización ocasiona importantes modificaciones en la estructura de las proteínas solubles, causa la desnaturalización de las enzimas nativas, una ligera desnaturalización de las proteínas del suero de leche, además, modifica la interacción entre las caseínas y también ocasiona la destrucción de los compuestos termolábiles (Ministry for Primary Industries. New Zealand Government, 2013).

La pasteurización a baja temperatura y largo tiempo (LTHT), es conveniente en procesos discontinuo donde la pasteurización se lleva a cabo por lote, e implica el calentamiento de la leche a 65°C durante 30 minutos. Las ventajas de este método es que no se coagulan las albúminas ni las globulinas, y el estado de los glóbulos grasos permanece inalterable. En procesos de pasteurización continua se aplican altas temperaturas y cortos tiempos (HTST), implica el calentamiento de la leche a 75°C por un tiempo de 15 segundos (Byland *et al.* , 2003).

Algunos microorganismos formadores de esporas como *C. tirobutiricum*, pueden sobrevivir a la pasteurización y provocar serios problemas durante la maduración del queso, debido a que forman ácido butírico que destruye la textura del queso y causa sabores desagradables. Un tratamiento térmico más fuerte reduciría el riesgo antes citado, pero al mismo tiempo perjudicaría seriamente a las propiedades generales de la leche para la elaboración de queso. Este inconveniente se puede eliminar por medio de una bactofugación, la cual elimina hasta el 90% de las bacterias presentes en la leche. Este tratamiento es particularmente efectivo con referencia a las esporas, las cuales presentan mayor densidad que las bacterias (Silva, 2004).

**Adición de cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>).** El calcio soluble presente en la fase acuosa de la leche, se encuentra en equilibrio con el calcio coloidal ligado a las micelas de caseína. Para lograr una buena coagulación, las micelas de caseína deben estar saturadas de calcio. Si la leche utilizada es de pobre aptitud para la elaboración de quesos, el coagulo formado será blando, dando lugar a grandes pérdidas de finos

(partículas de caseína), así como de grasa, además de una sinéresis inadecuada durante el proceso. Con objeto de mejorar la calidad de la leche para la elaboración de queso, es suficiente con adicionar de 5 a 20 gramos de  $\text{CaCl}_2$  por cada 100 litros de leche, ya que una adición excesiva puede hacer que el coagulo sea tan duro, que se dificulte su corte. Es importante que el  $\text{CaCl}_2$  se distribuya uniformemente en la masa de leche, razón por la que es recomendable disolver previamente el  $\text{CaCl}_2$  en agua, y se debe añadir unos pocos minutos antes del cuajo (Amiot *et al.*, 1991).

#### **2.2.4.2 Coagulación de la leche**

La coagulación de la leche es el proceso fundamental de la elaboración de quesos y se consigue normalmente por dos métodos distintos. El primero consiste en la adición de cuajo, cuyo principio activo es la renina, aunque también pueden emplearse otras enzimas proteolíticas. El segundo consiste en la acidificación de la leche mediante cultivos iniciadores, o mediante la adición de ácidos orgánicos como el ácido cítrico o láctico, hasta alcanzar el punto isoeléctrico de la caseína (4.6-4.7), seguido de un ligero calentamiento. Un tercer método incluye la aplicación de los dos anteriores (Lucey, Johnson, y Horne, 2003).

El cuajo se extrae del estómago de las terneras y se comercializa en forma líquida o en polvo. La fuerza usual del cuajo líquido varía entre 1:10,000 a 1:15,000, lo que se interpreta como una parte de cuajo puede coagular de 10,000 a 15,000 partes de leche en 40 minutos y a una temperatura regularmente de 35°C. La coagulación con cuajo constituye el sistema de coagulación más ampliamente utilizado en el proceso de elaboración de quesos. El mecanismo de acción de la renina es el siguiente. La renina provoca una proteólisis limitada de la k-caseína, originando una fracción glicopeptídica soluble en agua y una fracción de para-k- caseína hidrófobo. Después, las micelas de caseína cuya estructura se ha modificado se agregan en folículos y después en fibras que finalmente forman una red tridimensional que en su interior retiene el lactosuero y los glóbulos de grasa, semejante a un líquido que impregna

una esponja (Byland *et al.*, 2003). La coagulación enzimática de la leche depende de los siguientes factores:

- **La dosis del cuajo.** El cual depende de la fuerza del mismo.
- **La temperatura.** Se ha visto que la velocidad de coagulación es máxima a temperaturas comprendidas entre 30-35°C.
- **El pH de la leche.** Cuando el pH es inferior a 7 se observa una aceleración de la gelificación, debido a que se acerca al pH óptimo de actividad de la enzima, el cual es de 5.5 y porque se reducen las cargas eléctricas de las micelas de caseína, lo cual disminuye la estabilidad de las mismas (Silva, 2004).

#### **2.2.4.3 Corte de la cuajada.**

Cuando la cuajada ha alcanzado el grado de firmeza requerido, se corta en pequeños cubitos, mediante la utilización de cuchillos o liras. El propósito del cortado de la cuajada es permitir la salida del suero que se encuentra en el interior de la cuajada. En el momento del corte, la cuajada debe estar firme, ya que las cuajadas muy blandas se desmenuzan durante el proceso, dando origen a rendimientos muy bajos. Por otro lado, las cuajadas muy duras son difíciles de trabajar y se forma una capa seca sobre la superficie de los trozos, haciendo el desuerado irregular. Es por ello que resulta importante hacer el cortado de la cuajada en forma homogénea, a fin de minimizar las pérdidas e incrementar el rendimiento (Silva, 2004).

#### **2.2.4.4 Desuerado de la cuajada**

Durante la producción de los quesos, la mayor cantidad de suero se desprende de los cubos durante las operaciones de corte y agitación de la cuajada. El lactosuero eliminado contiene la mayor parte de la lactosa residual y de sustancias nitrogenadas no coaguladas, así como una proporción variable de minerales. Es importante que para cada tipo de queso se drene siempre, la misma cantidad de suero, normalmente del 35 al 50% del volumen inicial de leche, con ello se asegura un tratamiento uniforme en el proceso, quedando una menor cantidad de suero en la cuajada, lo cual determina muchas de las características de las distintas variedades de queso,

como son: la dureza, textura, velocidad e intensidad de la maduración, etc. Por esta razón, el desuerado tiene una gran importancia en el proceso de fabricación y además, controlando esta etapa se regula el extracto seco total exigido por la legislación para cada tipo de queso en particular (Amiot *et al.* , 1991).

#### **2.2.4.5 Moldeado.**

Después de la eliminación de la mayor parte del suero, los gránulos de cuajada se colocan en moldes de diferentes tamaños y formas, que son los que dan la apariencia final del queso. Generalmente los moldes son de madera, plástico o metal (Silva, 2004).

#### **2.2.4.6 Prensado**

La operación de prensado y desuerado de la cuajada tiene varios fines que son:

- El queso se individualiza en piezas y adquiere su tamaño y forma típica
- Se consigue una eliminación adicional de suero.
- Con el prensado, el queso adquiere una superficie firme que le permite conservar su estructura en las operaciones posteriores de salado, maduración, etc.
- Dependiendo del tipo de queso, el prensado se lleva a cabo en condiciones distintas de tiempo, temperatura, pH y presión, los cuales son los principales factores que intervienen en esta operación (Silva, 2004).

#### **2.2.4.7 Salado**

El salado es la operación que consiste en adicionar cloruro de sodio (sal común) a los quesos. Se lleva a cabo principalmente mediante la inmersión directa de los quesos en baños de salmuera, o bien, mediante la aplicación directa de los cristales de cloruro de sodio (sal) sobre la corteza de los quesos, o adicionada y mezclada previamente a la cuajada, antes del moldeo y prensado de la misma. Otro método para realizar el salado de los quesos consiste en la adición de sal en la tina de coagulación, después del cortado de la cuajada. Este método presenta el

inconveniente de que se incorpora sal al suero, limitando su posible aprovechamiento. Entre los principales objetivos del salado de los quesos se tienen los siguientes (Byland *et al.*, 2003).

- Se realza el sabor del queso.
- Se regula el desarrollo de microorganismos, tanto suprimiendo bacterias indeseables, como controlando el desarrollo de los microorganismos que intervienen en el proceso de maduración.
- Se mejora la apariencia y consistencia de los quesos.
- Se facilita la pérdida de más suero después del desuerado de la cuajada.
- Se incrementa la vida de anaquel de los quesos.

#### **2.2.4.8 Maduración**

En los quesos denominados “frescos”, prácticamente no se presenta esta etapa. Los otros tipos de quesos sufren una maduración biológica durante la cual se desarrolla su sabor, a la vez que se modifica su aspecto, textura y consistencia. Cada tipo de queso se caracteriza por su propio proceso de maduración, en todos ellos se presentan tres grandes fenómenos, aunque en distinto grado, ellos son:

- Fermentación de la lactosa con producción de ácido láctico, así como cantidades menores de ácido acético, ácido propiónico, bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y diacetilo.
- Hidrólisis de grasa, lo cual influye en el desarrollo del aroma y sabor del queso.
- Hidrólisis de las proteínas, lo cual afecta el sabor, aspecto y textura del queso.

La elaboración de quesos madurados posee ciertas desventajas como: un tiempo prolongado de proceso que resulta costoso que no es totalmente controlable y la dificultad para predecir los tiempos precisos de maduración. Se han realizado intentos de acelerar la maduración y disminuir los tiempos, mediante el uso de enzimas, y microencapsulados enzimáticos, los resultados no han sido favorables,

debido a la imposibilidad de controlarles, lo cual hace que los productos sean deficientes en sabor, tengan sabores no deseados o un sabor no propio del queso (Folkertsma, Fox, y McSweeney, 1996)

Se han realizado pruebas para reducir el tiempo de maduración que consistieron en incrementar las temperaturas de maduración y añejado, aunque esta acción implica riesgos tecnológicos, como el favorecer a las bacterias mesófilas que estén presentes como contaminantes. Para superar ese obstáculo, se realizó la pasteurización de la leche mediante un proceso muy higiénico. A pesar de todo, el resultado no fue el esperado ya que por efecto de la misma temperatura, los metabolitos de la maduración cambiaron, generando un desbalance en el perfil de sabores y aromas, así como ausencia de otros sabores característicos, aunque si fue posible, hallar condiciones de temperaturas donde se obtuvieron quesos aceptables por el consumidor (Sihufe *et al.* , 2010).

#### **2.2.4.8.1 Factores que afectan la maduración de los quesos**

La elaboración de quesos madurados suele tener un costo alto, debido al tiempo necesario de maduración, costo energético en refrigeración y capital detenido en producto almacenado; pero la realidad es que las condiciones de maduración, impactan fuertemente en la fermentación, desarrollo del cultivo iniciador y en las NSBAL. Al final, si se varían, las condiciones se obtienen productos con diferente textura, sabor y aroma. También la composición química influye fuertemente, en especial la humedad de la cuajada y el NaCl, las condiciones para manchego suelen ser a temperatura de 8-10°C y una humedad relativa de 20% (Pachlová *et al.* , 2012).

Los quesos maduros tienen una sucesión de numerosos microorganismos, tales como bacterias, levaduras y mohos, las vías enzimáticas de estos microorganismos difieren significativamente, impactando la maduración y la calidad del producto final (Kilcawley, Nongonierma, Hannon, Doolan, y Wilkinson, 2012). También la composición impacta fuertemente ya que la concentración de proteína, grasa,



humedad y lactosa afectan tanto la textura como el sabor. A pesar de que los ingredientes básicos para elaborar queso casi siempre son los mismos; leche, cuajo, sal y microorganismos, la forma en que se procese cada uno de ellos en las diferentes etapas de producción, crean diferentes tipos de quesos (Ndoye *et al.* , 2011).

Los factores que afectan la maduración de los quesos son numerosos y comprenden fundamentalmente: las enzimas presentes en la leche, el cuajo y las enzimas segregadas por la flora bacteriana presente en el queso. Puesto que la maduración del queso depende fundamentalmente de la actividad bacteriana, se debe entender que los factores que regulan ésta, juegan un papel preponderante en el proceso de maduración de los quesos, entre estos factores tenemos: la microbiota presente en el queso, la adición de cultivos iniciadores, el contenido de humedad, la temperatura, el pH, el contenido de sal y la aireación (Byland *et al.* , 2003).

#### **2.2.4.8.1.1 Microbiota del queso.**

La leche con que se elaboran los quesos frescos artesanales no suele pasteurizarse, lo que genera un crecimiento de gran cantidad de microflora nativa, con diversos resultados en las maduración, muchas veces incluso con resultados indeseables (Herrera *et al.* , 2014). Una forma de controlar ésta problemática es realizar la pasteurización de la leche e incorporar un cultivo láctico seleccionado que sea inocuo y genere sabores, aromas y textura agradable.

La microbiota de un queso puede llegar a ser muy compleja, ya que suele haber una sucesión de diferentes microorganismos conforme se desarrolla la maduración, los microorganismos pueden provenir de diferentes fuentes tales como plantas, piel del ganado, suelo, contacto humano etc. Además se utilizan los cultivos lácticos que se adicionan intencionalmente a la leche, para obtener beneficios de estos. Por ejemplo, existen cepas de *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus dyacetilacthis*, *Penicillium Roqueforti* y otros más que generan

cambios en el queso con atributos deseables, cada cepa utiliza en mayor o menor cantidad alguno de los componentes de la leche, por ejemplo algunas cepas utilizan la lactosa y el citrato residual en el queso para generar metabolitos de aroma y sabor. Además cuando estas bacterias o mohos, mueren sufren una lisis que libera al medio enzimas proteolíticas intracelulares, que producen aminoácidos libres, y algunos de estos son precursores de compuestos aminados, carbonílicos y sulfúricos que generan sabor y aroma característico del queso (Gori *et al.* , 2013).

Existe el consenso de los beneficios del queso elaborado con prácticas tecnológicas modernas, y que el principal requisito es el uso de leche pasteurizada, además del empleo de cultivos lácticos definidos, así como tener buenas prácticas de higiene durante todas las etapas de la producción, esto mejora no sólo la inocuidad, sino que también hay beneficios en los sabores y aromas porque suelen ser más limpios, definidos y reproducibles (Herrera *et al.* , 2014).

#### **2.2.4.8.1.2 Cultivo iniciador**

Las bacterias ácido lácticas, comprenden un amplio rango de géneros y una gran cantidad de especies, se considera de forma general que las bacterias ácido lácticas son microaerófilas y crecen en condiciones de anaerobiosis, además son bacterias Gram positivo, no esporulan y producen ácido láctico en su fermentación. A ésta regla hay excepciones, ya que, algunas cepas de los géneros *Bacillus* y *Sporolactobacillus* forman endósporas y pueden ser aerobios y aerobios facultativos. Los géneros de BAL más importantes son; *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* y *Weissella*. El género *Bifidobacterium*, es considerado una bacteria ácido láctica, a pesar de que no es un Gram positivo, pero debido a su comportamiento, metabolismo, bioquímico y nicho ecológico común en el tracto intestinal. Por otro lado, anteriormente todas las especies del género *Bacillus* eran consideradas como BAL, pero esto cambió y, actualmente no es así, porque el

metabolismo de algunas especies difiere a las BAL (Klein, Pack, Christine, y Reuter, 1998).

Muchas especies de bacterias ácido lácticas poseen un valor biotecnológico, y son utilizadas en los procesos de fermentación y maduración de alimentos, su función principal en el alimento es la disminución de pH a través de la producción de ácido láctico y la producción de compuestos que generan aromas y sabores. Además, algunas cepas son capaces de producir sustancias antimicrobianas como las bacteriocinas (Ainsworth, Stockdale, Bottacini, Mahony, y van Sinderen, 2014).

#### **2.2.4.8.1.2.1 *Lactococcus lactis* y subespecie *cremoris***

*Lactococcus lactis* es una bacteria ácido láctica, Gram positiva con muchas aplicaciones biotecnológicas, está caracterizada como una bacteria homofermentativa y GRAS (Generalmente reconocido como seguro por sus siglas en ingles), esto ha hecho que sea muy utilizada en la fermentación de alimentos (Linares, Kok, y Poolman, 2010). De forma natural las especies de *Lactococcus lactis*, se encuentran en el medio ambiente, se considera que las plantas son su nicho original, por eso es posible obtener cepas de *Lactococcus lactis* en plantas de frijol, maíz, frutas, y vegetales fermentados (Ainsworth *et al.* , 2014). Pero también, se ha encontrado *Lactococcus lactis* en la ubre, la piel de las vacas y en el forraje que consume el ganado (Fallico, McAuliffe, Fitzgerald, y Ross, 2011)

En la industria, *Lactococcus lactis* se divide en varias subespecies, que suelen clasificarse en dos especies predominantes: *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*, dicha división se realiza por su utilización en la industria, la cual está basada según su relevancia fenotípica. Sin embargo, en los análisis genéticos se ha determinado que efectivamente existen las cepas: *lactis* y *cremoris*. (Ainsworth *et al.* , 2014). Las cepas de *Lactococcus lactis* son muy utilizadas en la industria de fermentación de alimentos, debido a su inocuidad, fermentación homofermentativa, y

su capacidad de utilizar diversos nutrientes como lactosa, citrato, proteínas de leche y otros nutrientes (Fallico *et al.*, 2011).

Un gran número de cepas y sus secuencias genómicas de *Lactococcus lactis* están disponibles como IL1403 (3) and KF147 (28), también, de las subespecies *Lactococcus lactis* subespecie *cremoris*, como MG1363 (33) and SK11 (22). *Lactococcus lactis* subespecie *cremoris* MG1363 (Linares *et al.*, 2010). *Lactococcus lactis* es una de las bacterias de una amplia aplicación como cultivo iniciador en la industria para la fermentación de productos lácteos. Su éxito en alimentos lácteos fermentados se debe a sus plásmidos codificados, que promueven de forma efectiva su crecimiento en la leche, mediante la degradación de nutrientes, además posee resistencia a condiciones de stress ambiental (temperatura, metales pesados, presión osmótica y bacteriófagos (Fallico *et al.*, 2011), esto es posible porque *Lactococcus lactis* posee mecanismos, que le permiten la sobrevivencia en condiciones mínimas de crecimiento, ante esa situación, cambia la expresión metabólica y suele usar como fuente de carbono, algunos productos de degradación de la glicolisis y residuos de aminoácidos (Ercan *et al.*, 2015).

Después de cierto tiempo de crecimiento y limitación por sustrato, se alcanza la fase de muerte y se presenta la lisis celular del cultivo iniciador, lo cual resulta de suma importancia para el desarrollo de sabor del queso, debido a que diversas enzimas contenidas en las células bacterianas, son liberadas cuando entran en muerte y ocurre la autólisis. Aunque no siempre todas las enzimas intracelulares están activas, algunas de ellas si lo están, en especial las proteasas, que tienen un efecto significativo en la formación del sabor en el queso. Este factor es importante, ya que algunos cultivos iniciadores se auto lisan con la liberación de esas enzimas, generando proteólisis y cambios en sabor, que incluso suelen ser perceptibles por el consumidor. Algunas de las condiciones que provocan la autólisis de las bacterias son: una rápida acidez del producto y una fuerte remoción de lactosa (Pillidge *et al.*, 2002).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son la microbiota predominante durante la maduración de los quesos, esto incluye el cultivo láctico adicionado de lactobacilos y otros oportunistas del ambiente no ácido lácticos (NSBAL) pero cuando la lactosa residual se ha acabado y se ha llegado a un pH de 5.3 a 5.0, esta condición, resulta desfavorable para la sobrevivencia del cultivo, lo que provoca que su viabilidad disminuya. En ésta etapa muchas células se auto lisan y liberan metabolitos en la matriz del queso, en este punto las NSBAL tienen condiciones de predominio, debido a que la mayoría son heterofermentativas generan diversos sabores y cambios en los componentes del queso, por procesos de glicolisis de lactosa, proteólisis de caseína y lipólisis de las grasas, los metabolitos generados dan sabores y características únicas (Steele, Broadbent, y Kok, 2013).

#### **2.2.4.8.1.3 Humedad**

El agua se encuentra en dos formas en el queso, como agua ligada o como agua libre; el agua ligada no está disponible para la actividad biológica ni para la disolución o hidratación de compuestos hidrofílicos, mientras que el agua libre si está disponible para la actividad biológica, y en ella se encuentran disueltos compuestos como la lactosa y el NaCl. En los quesos frescos, la cuajada atrapa el agua en una matriz y suele salir por los poros, junto con compuestos hidrofílicos disueltos. El agua libre al contener nutrimentos y la lactosa disuelta, influye fuertemente en la maduración, porque permite o limita la actividad de la microbiota (Hickey, Guinee, Hou, y Wilkinson, 2013).

#### **2.2.4.8.1.4 Temperatura de maduración.**

Las temperaturas óptimas de maduración suelen ser alrededor de 10°C, ya que, manteniendo ésta temperatura se generan los metabolitos deseados, así como, una prevalencia del cultivo iniciador sobre las NSBAL prioritariamente mesófilas, así se mantienen hasta el momento de su venta. Pero a temperaturas más bajas de 4-6°C

una vez madurados permite que los lácteos o el queso, duren unos 30 días a esas temperaturas al ralentizar más las reacciones (Olmedo, Nepote, y Grosso, 2013).

Se ha buscado disminuir el tiempo de maduración a través de varias estrategias, una de ellas es madurar los quesos a temperaturas superiores a la refrigeración, a unos 16- 18°C, buscando que las reacciones enzimáticas sean más rápidas y, así, lograr un menor tiempo de maduración, pero los resultados muestran que el riesgo de NSBAL es muy alto; además, cambia el sabor y aroma del queso, por cambios en las rutas metabólicas (Bunkova *et al.* , 2010). Por otro lado, uno de los riesgos al elevar la temperatura de maduración, es la presencia de microorganismos alterantes y diversos patógenos productores de aminas piogénicas, como putrescina y cadaverina altamente tóxicas, que son producidas por cepas de *L. curvatus* y algunos enterococcus ya identificados son generadores de aminas piogénicas en esas condiciones (Menšíková, Georgová, Flasarová, Pachlová, y Bun, 2016).

#### **2.2.4.8.1.5 El pH.**

El pH en el queso disminuye principalmente por la utilización de la lactosa residual por la microbiota, conforme avanza la maduración la producción de ácido láctico es tan alta que inhibe a las bacterias ácido lácticas (BAL), en esta situación muchas bacterias no-acido-lácticas (NSBAL) no son inhibidas y comienzan a predominar y producir compuestos alcalinos como amonio que pueden generar desde aromas y sabores deseables y otros tantos indeseables (Serhan, Linder, Hosri, y Fanni, 2010).

#### **2.2.4.8.1.6 Contenido de sal**

La concentración de cloruro de sodio (NaCl) en el queso, permite también controlar la población microbiana, guiar el metabolismo de las bacterias ácido lácticas (BAL) y de otras bacterias no ácido lácticas (NSBAL) que puedan estar presentes en el queso. Aparte el cloruro de sodio actúa como un potenciador de sabor que mejora la palatabilidad del queso. El NaCl juega un rol importante en la conservación,

desarrollo del sabor y aroma de los quesos, su concentración en el queso forma un medio selectivo para las bacterias, mohos y levaduras (Mistry y Kasperson, 1998).

La tolerancia a la sal por los microorganismos varía considerablemente de una especie a otra. La actividad de la bacterias productoras de ácido láctico se ve notablemente retardada a concentración salinas por arriba del 0.5%, si dicha sal se añade en una etapa temprana del proceso de elaboración. La cantidad de sal utilizada se debe ajustar al grado de maduración del queso, con objeto de mantener un equilibrio entre la sal y el aroma del queso, razón por la cual, los quesos suaves son menos salados que los quesos fuertes (Byland *et al.* , 2003).

Cuando las concentraciones de cloruro de sodio son superiores al 4% en el queso, permiten sólo el crecimiento de microorganismos halotolerantes y halófilos, en la actualidad las tendencias de eliminar o reducir el sodio de los alimentos, representa grandes desafíos, problemas de elaboración y aceptación del consumidor. McMahon *et al.* , (2014) estudiaron reducciones del 10% al 25% de la cantidad de NaCl utilizado en quesos, encontraron que esas reducciones suelen ser aceptadas por los consumidores, pero cuando la reducción de NaCl es mayor al 30% la variación en sabor, suele percibirse como un producto deficiente en cualidades propias, ello limita la posible reducción de NaCl lo que obliga a usar prácticamente las mismas cantidades de NaCl. Por otro lado, las nuevas tendencias modernas buscan reducir el sodio en el queso, por medio del uso de otros cationes, donde el más destacado y factible para remplazar parcialmente al sodio es el potasio, la forma de hacerlo es utilizando el KCl, en lugar de NaCl. Los resultados muestran que no se ha observado afectación a la maduración o el sabor (McMahon *et al.* , 2014).

#### **2.2.4.8.2 Cambios que se presentan durante la maduración de los quesos**

Durante el periodo de maduración de los quesos se produce una descomposición de la lactosa, ácido cítrico, lactatos, proteínas y grasas. La descomposición de la lactosa es llevada a cabo por las bacterias ácido lácticas presentes en el queso y da origen a

la formación de ácido láctico y por ende, a la disminución del pH del queso (McMahon, Paulson, y Oberg, 2005).

#### **2.2.4.8.2.1 La proteólisis en el queso**

La proteólisis de las caseínas tiene un importante significado en la maduración del queso, debido a que genera propiedades de sabor, aroma y textura específicos. La proteólisis en conjunto, es un evento bioquímico complejo que ocurre en la maduración de muchos quesos, inicia con la hidrólisis de las caseínas por el cuajo, y la enzima plasmina que contiene la leche, aunque ésta última es desactivada cuando se realiza la pasteurización (McSweeney *et al.* , 1994; Mcsweeney y Fox, 1997; Folkertsma *et al.* , 1996). Estas dos enzimas producen péptidos de cadena larga. También existe actividad proteolítica de las enzimas secretadas tanto por los microorganismos que integran el cultivo iniciador, como por la microbiota presente en la leche (NSBAL), los cuales generan péptidos de cadena corta que impactan tanto en el sabor como en el aroma de los quesos. La plasmina es la proteasa más importante en la leche, es excretada en las ubres sanas, pero la presencia de lesiones o patógenos en las ubres, eleva el conteo de células somáticas y la cantidad de proteasas diferentes a la plasmina, aumenta en la leche, dichas proteasas se vuelven más importantes con el aumento de la severidad de la inflamación de la ubre. La salud de la ubre afecta el rendimiento y calidad de la leche, en consecuencia, la producción de queso y calidad del mismo. El deterioro de las propiedades funcionales del queso, se produce principalmente, por el aumento de proteólisis. En la leche, esto se manifiesta en una coagulación que requiere un tiempo muy amplio y produce un coágulo débil, que a su vez, conduce a un aumento en el contenido de humedad en el queso, finalmente se tiene un queso de textura y calidad deficiente (Leitner, Krifucks, Merin, Lavi, y Silanikove, 2006).

Se ha observado que la mayor actividad proteolítica en el queso, ocurre durante los primeros 30 días de maduración, posteriormente desciende hasta ser débil (Delgado



*et al.*, 2011). La temperatura de maduración y la humedad son factores que también aceleran la proteólisis, que puede llevar a defectos de calidad (Sihufe *et al.*, 2010).

#### **2.2.4.8.2.2 Desarrollo del sabor y aroma en el queso.**

El desarrollo del flavor (suma de tacto, sabor, y aroma) en el queso, es un proceso bioquímico dinámico que se ve afectado por el tipo y la composición de la leche, las condiciones de proceso, y los microorganismos y enzimas presentes en el queso. La microbiota del queso, es la principal fuente de enzimas que influyen en el desarrollo del sabor, los sustratos principales para estos procesos son: lactosa (glucólisis), ácidos orgánicos (citrato), lípidos (lipólisis), y proteínas (proteólisis). De estos procesos bioquímicos, el catabolismo es de importancia en el desarrollo del sabor, sin importar la variedad de queso, es decir, el crecimiento bacteriano y la utilización de los sustratos son determinantes para los aromas y sabores. Los factores que determinan el flujo y selección a través de las vías metabólicas, no están del todo claros, se requieren avances en la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica, así como en el desarrollo de los modelos integrados metabólicos y reguladores para los componentes claves de la microbiota del queso (Steele *et al.*, 2013).

La textura de un queso depende de los componentes químicos de la leche (incluso en quesos madurados), por otro lado, los microorganismos modifican estos componentes y generan diferencias en la maduración, por ello es necesario estandarizar tanto la leche como el proceso, para obtener resultados reproducibles y mantener la calidad. Sin embargo el origen y dieta del ganado genera ligeras variaciones en los componentes de la leche, que suelen no ser determinantes en las propiedades fisicoquímicas del queso, pero el sabor y aroma si es fuertemente influido por compuestos presentes en la leche, especialmente los provenientes del forraje y pastos que consume el ganado (Martínez-Loperena, Ayala-Burgos, y Castelán-Ortega, Octavio Solorio-Sánchez, 2015).

El papel de las bacterias no ácido lácticas (NSLAB) en el desarrollo de sabor del queso no está claro, debido a que desarrollan una gran variedad de sabores que van desde ligeros a fuertes o sucios, una cuenta alta de NSLAB en el queso, está asociada a la utilización de leche cruda, o contaminaciones cruzadas del alimento. El efecto en el queso es variable, va desde un sabor más intenso en queso de leche cruda, que en el queso elaborado con leche pasteurizada o microfiltrada (MF) hasta sabores amargos que son indeseables.

Mientras que para algunos quesos elaborados de leche cruda como el Cotija, las NSLAB juegan un papel importante en el desarrollo de sabor y se considera a las NSLAB como parte de la microbiota característica, que genera cualidades de sabor y aroma únicas, para otros como el manchego mexicano son causantes de defectos porque cambian los metabolitos de sabor y aroma característico. esto es debido a que poseen una amplia gama de enzimas hidrolíticas, que tienen el potencial de generar diversos metabolitos Shakeel-Ur *et al* . (2004) mostraron que una mezcla que contenía 1% de leche cruda con un mayor número significativo de NSLAB, provocó que el queso elaborado con esta mezcla, tuviera un sabor más afrutado y un aroma picante, en comparación con el queso elaborado con leche 100% pasteurizada, pero la inocuidad del queso no se garantizaba.

#### **2.2.4.8.2.3 La lipólisis en el queso.**

La lipólisis en el queso es parte de la maduración pero dependiendo de las condiciones en que se lleve a cabo el proceso de elaboración y la maduración del queso, la lipólisis será más o menos intensa. La descomposición de las grasas origina la formación de glicerina y ácidos grasos líquidos, así como la formación de aldehídos y cetonas, es llevada a cabo por las lipasas de la leche y las lipasas secretadas por los microorganismos presentes en la misma.

El aroma del queso se obtiene a través de un fino equilibrio entre ciertas sustancias tales como ácidos grasos, aldehídos y cetonas, así como aminoácidos libres y

péptidos. En la lipólisis se generan compuestos de ácidos grasos de cadena corta (C4:0 a C8:0), si el queso es elaborado con leche cruda la lipólisis es mayor, también algunos pasos en el proceso favorecen estas reacciones, entre ellos tenemos la temperatura elevada y carga microbiana, de esta lipólisis se producen compuesto como 2-heptanona, 2-nonanona, hexanoato de etilo, butanoato de etilo y butanoato de isoamilo (Vèlez, 2013).

### **2.3 Quesos mexicanos genuinos**

Se entienden como quesos mexicanos genuinos a aquellos que son elaborados a partir de leche fluida de vaca o de cabra, fundamentalmente cruda, con el empleo mínimo de aditivos como cuajo, sal y eventualmente cloruro de calcio. Poseen una fuerte raíz histórica nacional. Son fabricados dentro del país por mexicanos, nativos o nacionalizados (tal es el caso de los menonitas y chipileños), o extranjeros residentes. Muchos de estos quesos son regionales o meramente locales y son la expresión de las condiciones ecológicas y del conocimiento tradicional del territorio donde se elaboran. Algunos se han difundido por gran parte del país (v.g. el panela), otros han llegado al extranjero, principalmente a los Estados Unidos de Norteamérica, por medio de emigrantes (v.g. el queso Cotija, y el Oaxaca). Todas estas características les confieren el carácter de genuinos, es decir, auténticos, propios de esta tierra y país (García-Ramírez, -Escoto-Cervantes, y Reyes, 2013).

En México, se elaboran una gran cantidad de quesos frescos y unos pocos madurados la gran mayoría es a partir de leche cruda de vaca, proveniente de diferentes sistemas de producción, donde la mayoría del ganado son razas criollas, cebús o ganado de razas Holstein, Suizo, Jersey y mezclas de éstas. La calidad de la leche no depende esencialmente de la raza del ganado, si no de los factores de higiene para su conservación y manejo, que suelen afectarse por situaciones geográficas, climáticas y culturales de cada región, así también influye el sistema de producción.

En la actualidad se producen en México al menos 40 variedades de quesos genuinos, la mayoría a partir de leche cruda. Se elaboran en pequeñas cantidades y siguiendo procedimientos tradicionales-artesanales. Sus orígenes se remontan en algunos casos, al periodo de la Colonia, como sucede con el queso Cotija Región de Origen. Muchos otros se comenzaron a elaborar en las haciendas como una estrategia para preservar los excedentes de leche que empezaron a generarse. Aunque inicialmente se siguieron procedimientos típicos de Europa, muy pronto el ingenio local dio pie a quesos dotados con el sello propio de los sabores de México (Cervantes Escoto, Villegas de Gante, Cesín Vargas, y Espinosa Ortega, 2006).

La mayor parte de los quesos mexicanos genuinos se comenzaron a elaborar como un medio para aprovechar y conservar los excedentes de leche en el periodo de lluvias. La acumulación de la producción de queso durante esos meses y la orientación hacía el autoconsumo, evidenciaron la ausencia de canales de comercialización. Así, en las haciendas se comía queso fresco en el periodo de lluvias y añejo (madurado) en los meses siguientes. El tiempo permitió consolidar las técnicas de elaboración y las convirtió en una tradición. Simultáneamente, los sabores, aromas y texturas de los quesos mexicanos genuinos se incorporaron a la rica gastronomía mexicana, siendo parte del reconocimiento que se le otorgó a la misma en 2010, como patrimonio cultural de la humanidad por la UNESCO (García *et al.*, 2013).

Entre los quesos reconocidos como quesos mexicanos genuinos se encuentran; el queso Panela, Chihuahua, Cotija, Asadero, Oaxaca, Jarocho, Manchego mexicano, Morral, etc. En esos quesos mexicanos muy probablemente hubo un aporte técnico o cultural de personas extranjeras que se establecieron en el país hace siglos, o unas décadas atrás y, forman parte del México multicultural (Cervantes *et al.*, 2006).

### **2.3.1 Queso tipo manchego mexicano**

De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-F-462-1984, el Queso Tipo Manchego Mexicano se define como el producto que se obtiene a partir de leche pasteurizada entera de vaca, sometida a procesos de coagulación, cortado, desuerado, fermentado, salado, prensado y madurado, durante un periodo mínimo de 7 días a temperatura y humedad controladas; sin que se hayan empleado en su elaboración grasas o proteínas no provenientes de la leche.

El queso tipo manchego mexicano comparte con el queso manchego español semejanzas en su forma cilíndrica plana, un peso entre 2 y 5 kg y el tipo de pasta dura. No obstante, difiere en el periodo de maduración, pues mientras el queso manchego mexicano sufre maduración ligera que no va más allá de 2 a 4 semanas al momento de su venta, el periodo de maduración del queso manchego español llega a ser hasta de seis meses. La elaboración del queso manchego español se realiza en la región de “La Mancha” España (en las provincias de Toledo, Albacete y Cuenca) con leche de oveja, mientras que el queso tipo manchego mexicano se elabora con leche entera de vaca, pasteurizada, adicionado cultivos lácticos y puede clasificarse como un queso de pasta semidura prensada, no cocida, tajable y madurada, cuando madura presenta un color amarillo pálido atractivo, una textura suave y un sabor y aroma muy agradable.

La elaboración del manchego mexicano consta de una tecnología artesanal que incorpora un manejo más higiénico, porque se requiere emplear leche pasteurizada, manejar cultivos lácticos, aditivos (cloruro de calcio y nitrato de potasio), cortar con liras el gel, prensar la pasta de forma homogénea y madurar el producto en condiciones controladas. El manchego mexicano es uno de los quesos apreciados por los consumidores mexicanos, sobre todo en el medio urbano, se presenta en el mercado en piezas pequeñas o en cortes de piezas grandes, empacados en películas de plástico auto adherible, o al vacío, que los protege perfectamente de la resequedad y de los hongos (Cervantes *et al.*, 2006).

### 2.3.2 Maduración del queso tipo manchego mexicano.

La maduración del queso comprende una fermentación donde se desarrollan microorganismos que generan cambios en los componentes, debido a los sustratos que consumen y los metabolitos que producen. (Smit, Smit, & Engels, 2005). En el caso del queso tipo manchego mexicano, se utilizó como cultivo iniciador cepas de *Lactococcus lactis* y *Lactococcus lactis subespecie cremoris*, este es un cultivo puro certificado y reconocido como aditivo GRASS (Generally Recognized As Safe), por la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos de América, y que la industria utiliza comúnmente para la producción de ácido láctico en alimentos fermentados

#### 2.3.3.1 Características de calidad del queso tipo manchego mexicano

La de calidad que de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-462-1984

##### 2.3.3.1.1 Especificaciones sensoriales

Color: Ligeramente amarillo.

Olor: Característico, libre de olores extraños.

Sabor: Característico, libre de sabores extraños.

Consistencia: Semidura y rebanable.

##### 2.3.3.1.2 Especificaciones físicas y químicas

**Tabla 5. Especificaciones físicas y químicas del queso tipo manchego mexicano**

Parámetro	Contenido	Parámetro	Contenido
Humedad	≤ 48 %	pH	5.0 – 6.0
Grasa butírica	25 %	Cenizas Totales	6.5 %
Proteínas lácticas	22 %	Cloruro de sodio	3.0 %
Sólidos totales	52 %		

Fuente: NMX-F-462-1984. Alimentos lácteos. Queso tipo manchego.

#### **2.3.3.1.3 Especificaciones microbiológicas**

No debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas e inhibidores microbianos, ni otras sustancias tóxicas que puedan afectar a la salud del consumidor o provocar deterioro del producto.

Máximo de Coliformes 10000 UFC/g;

*Staphylococcus aureus* 100 UFC/g;

*Escherichia coli* 1000 UFC/g,

La evaluación de *Salmonella* en 25 g debe ser negativa.

#### **2.3.3.1.4 Especificaciones sobre materia extraña**

El producto debe estar libre de fragmentos de insectos, pelos y excretas de roedores, así como de cualquier otra materia extraña.

#### **2.3.3.1.5 Contaminantes químicos**

El producto objeto de esta Norma no debe contener ningún contaminante químico, en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud. Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a lo que establezca la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

#### **2.3.3.1.6 Empleo de aditivos**

Sólo se podrán utilizar los aditivos permitidos por la Secretaría de Salubridad y Asistencia, entre los que destacan los siguientes: cultivo láctico, cloruro de sodio, cuajo vegetal o animal, anito (semilla de achiote y caroteno en proporción no mayor de 0.06 %), cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) en una proporción no mayor de 0.02 %, ácido sórbico o sus sales de sodio o potasio 1 g/kg.

### **2.4 Propiedades funcionales**

Las propiedades funcionales del queso tipo manchego mexicano estudiadas en este trabajo fueron: extensibilidad, tajabilidad y rallabilidad, ya que son características

propias de este queso, además de que son demandadas para este queso por el consumidor y están relacionadas con los aspectos de calidad del queso.

#### **2.4.1 Extensibilidad**

La extensibilidad del queso es una característica textural importante para una amplia gama de aplicaciones de alimentos, especialmente la pizza, donde esta propiedad es ampliamente demandada por los consumidores (Ramírez-Navas, 2010). La extensibilidad está relacionada con la capacidad y condiciones que posee el queso que permiten la formación del biopolímero de proteína, formado en la reacción de ácido láctico + proteína, dando como resultado la unión de las cadenas de caseína que a su vez atrapan moléculas de grasa, agua y otros solutos como lactosa y minerales. (Cunha y Viotto, 2010).

#### **2.4.2 Tajabilidad**

La propiedad funcional de tajabilidad es conocida en el mercado de quesos como el llamado “Tajo” y se refiere a la característica de un queso en ser rebanado, y que esta rebanada no se rompa o desmorone, esta cualidad es demandada por el consumidor ya que en muchos platillos el queso se suministra o reparte en forma de rebanadas, así también, los vendedores al detalle exigen esta propiedad para minimizar pérdidas por recortes y rebanado del queso al cliente (Ramírez, 2010).

#### **2.4.3 Rallabilidad**

Actualmente sectores de mercados exigen y buscan el queso rallado listo para su consumo, fruto de la necesidad y la comodidad de la comida rápida, este tipo de productos está en rápido crecimiento en todo el mundo, (Pastor, Mellado, Ramírez, y Dolores, 2008). Como resultado, el queso que históricamente se ofrecía sólo en forma de bloque, ahora debe ser capaz de soportar una intensa trituración y debe ofrecer la capacidad de rallabilidad. Esta propiedad también es buscada por los consumidores porque el queso suele ser el adorno o guarnición de una gran cantidad



de platillos, y la forma de ralladura es una forma más de ofrecer el queso. El rallado tiene como ventajas que permite una rápida fusión del queso, en comparación con otros métodos de reducción de tamaño, tales como el triturado y tajado (Ramírez, 2010).

## **2.5 Aseguramiento de la calidad**

Para que la competitividad actual de las empresas queseras nacionales, medianas y pequeñas, aumente y se consolide sobre una base confiable, y para que esta industria satisfaga la demanda doméstica y las exportaciones potenciales se conviertan en realidad, hace falta recorrer un trecho considerable por el sendero del mejoramiento continuo de la calidad de los quesos y de la eficiencia de conversión de la leche en queso.

La industria alimentaria tiene una responsabilidad especial en cuanto al aseguramiento de la calidad de los alimentos que elabora. Todo es importante, la presentación, las propiedades funcionales, los atributos sensoriales, el valor nutrimental, la variedad, el costo razonable, la atención y rapidez en el servicio, etc., pero lo más importante es que los alimentos no representen un riesgo para la salud de los consumidores; es decir, que sean inocuos.

En la industria de productos lácteos, la elaboración de queso es un proceso complejo desde el punto de vista de la calidad, aún en el caso de quesos blancos o frescos “simples” fabricados por coagulación enzimática con cuajo, en ausencia de fermentos. Por ejemplo, en relación a los aspectos técnicos de la calidad del queso y de su mejoramiento, incluyendo los aspectos relacionados con la inocuidad, el sistema de causas de variación es grande y, a manera de ilustración, aquí se señalan solamente algunas de las causas más importantes:

Si la variación no está controlada, como sucede en la mayoría de los casos, el proceso de fabricación es impredecible y, por consiguiente, también serán

impredecibles los rendimientos, los costos y los atributos de calidad del queso. Si bien es cierto que la variación no se puede eliminar, debido a la incertidumbre y complejidad intrínsecas a todos los procesos, sí es posible y deseable controlarla dentro de ciertos límites, que se hacen cada vez más estrechos a medida que transcurre el tiempo dedicado al mejoramiento.

La grasa de la leche es susceptible a la rancidez, que consiste en la oxidación de la grasa con formación de varios aldehídos insaturados, los cuales impactan en su mayoría en defectos de sabor, esta rancidez es ocasionada principalmente por los microorganismos y es una causa de la pérdida de caducidad en el queso (Olmedo *et al.*, 2013).

Cuando no se logra un aseguramiento de calidad, los defectos en el producto suelen ser frecuentes, incluso tomar por sorpresa a los artesanos fabricantes del queso. Un defecto puede tener una o múltiples causas y resulta complicado para los artesanos y fabricantes entender la situación del defecto, por ello es necesario realizar investigaciones científicas que permitan predecir la fermentación en la matriz del queso, el comportamiento y desarrollo de los microorganismos. Un ejemplo es en el queso mozzarella, cuando se tiene una pasta demasiado suave y húmeda es un defecto que causa pérdidas al productor, se considera que esto ocurre por algún mecanismo relacionado a la microbiota y a las sales utilizadas en la salmuera, que suelen ser un secreto de fabricación (Luo, Pan, Guo, y Ren, 2013). Algunos artesanos suelen incorporar calcio en la salmuera para evitar el reblandecimiento de la pasta, estudios realizados encontraron que el calcio adicionado como cloruro de calcio, impedía la difusión del sodio a la salmuera, a la vez que favorecía salida de agua del queso, todo ello genera que la humedad residual en el queso sea menor y el reblandecimiento de la pasta no se dé (Luo *et al.*, 2013).

En los quesos, la textura es una propiedad funcional valorada por el consumidor, ésta depende principalmente de la proteólisis que sufra el queso y está determinada

por los contenidos de NaCl, sólidos totales y el pH modificados por la microbiota presente, sean bien por las BAL o por las NSLAB que generen cambios de flavor en la maduración. Para lograr un aseguramiento de la calidad y una maduración bien dirigida, se requiere una estricta higiene en el proceso, que tenga como objetivo el crecimiento casi único del cultivo iniciador y minimizar o eliminar las NSBAL (Pachlová *et al.*, 2012).

Por otro lado las propiedades funcionales forman parte del aseguramiento de la calidad, por ejemplo el fundido del queso, implica varias propiedades termofísicas, como fusión al calor, flujo a cierta temperatura, esencialmente, el queso, puede entenderse como un sistema complejo amorfo, en el cual la grasa y la fase acuosa están unidas (embebidas) a la proteína en una forma amorfa desordenada, el fundido puede verse como una plastificación. También la ruptura de la para  $\alpha$ -caseína, el contenido de grasa y el punto de fusión de ésta; contribuyen fuertemente a las propiedades termofísicas del queso (Bähler *et al.*, 2015).

El aroma se debe esencialmente a la fracción de compuestos volátiles, en quesos madurados esta fracción es muy diversa. Serhan *et al.*, (2010) identificaron hasta 16 diferentes compuestos como; 2 aldehídos, 8 alcoholes y 6 cetonas, entre los que se encontraban metilbutanal, que se asocia al sabor de notas de malta y a mantequilla, el octanal aromas a hierbas, el 1- propanol genera notas de aroma dulce, 3-methylbutanol aromas hierbas aromáticas (Serhan *et al.*, 2010).

## **2.5 Planteamiento del problema.**

Los sistemas de producción artesanal de queso enfrentan el reto de desarrollar y diversificar sus productos manteniendo un control de calidad óptimo, así como adaptarse a las condiciones y exigencias del mercado. Por otro lado para lograr un estándar de calidad competitivo que permita reducir pérdidas y costos, se requiere de un conocimiento científico tanto del proceso como de la función de cada uno de los ingredientes que componen el queso.

Uno de los ingredientes de importancia en la maduración de queso es la lactosa, la cual en la leche fluida es prácticamente constante en su concentración residual en el queso. Pero con el empleo de aditivos y leche descremada en polvo alta en lactosa, se modifica la concentración residual provocando que la forma en que se realizan los procesos tradicionales de elaboración del queso madurados cambien, ocasionando un descontrol de calidad y confusión entre los productores. El uso de leche en polvo descremada se genera por las variaciones de oferta y demanda en leche en polvo descremada y otros aditivos.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

La lactosa es el azúcar más importante presente en la leche y constituye el sustrato principal de las bacterias ácido lácticas que se utilizan en el proceso de elaboración y maduración de los quesos, es necesario realizar estudios sobre el efecto que tiene la concentración residual de este disacárido en el proceso de maduración, así como en las características organolépticas y las propiedades funcionales que determinan la calidad y por ende la aceptación del queso tipo manchego mexicano por el consumidor.

### **4. HIPÓTESIS**

La concentración de lactosa residual influye directamente en el proceso de maduración del queso tipo manchego mexicano, repercutiendo en sus características organolépticas y propiedades funcionales y por ende, en su aceptación por el consumidor.

### **5. OBJETIVOS**

#### **5.1 Objetivo general**

Determinar el efecto de la concentración de lactosa sobre los parámetros de calidad en el queso tipo manchego mexicano.

#### **5.2 Objetivos específicos**

- a. Determinación de los cambios fisicoquímicos que se presentan durante el proceso de maduración mediante un análisis bromatológico.
- b. Evaluación de las propiedades organolépticas y funcionales de los quesos elaborados con diferentes concentraciones de lactosa.
- c. Evaluación del desarrollo del cultivo iniciador durante el proceso de maduración de los quesos empleando técnicas microbiológicas.
- d. Verificar la inocuidad de los queso elaborados, utilizando la presencia de *Salmonella sp* como indicador de contaminación cruzada e higiene.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Calidad de la leche cruda

En este trabajo la leche utilizada fue recolectada de productores con un sistema de silvopastoreo, en el mes de noviembre del año 2015, en las zonas rurales del municipio de Marcos Castellanos, en el estado de Michoacán. Para conocer la calidad de la leche cruda se realizó su análisis en instalaciones de la empresa LICONSA S.A. de C.V Planta Jiquilpan, empelando el analizador MilkoScan™ FT2, el cual cumple con las normas y estándares mexicanos. Con este analizador se obtuvo la media de la composición de la leche cruda en los parámetros de; proteína, sólidos no grasos, grasa, punto crioscópico y acidez. La lactosa se determinó aparte por la metodología de la norma NMX-F-509-1988.

### 6.2 Materias primas

Leche fresca de vaca, recolectada en el Municipio de Marcos Castellanos, en el estado de Michoacán.

Lactosa grado alimentario con una pureza del 99% (Ampherfoods®, México).

Cultivo láctico integrado por las cepas de *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*, clave MA-11 Danisco (Alcatraz S.A. de C.V., México). Inicialmente el cultivo fue activado con el 1% de leche pasteurizada y se utilizó con una relación de 10 unidades por cada 100 litros de leche a procesar.

Sal de mesa adquirida en la ciudad de Jiquilpan en el estado de Michoacán.

Cuajo: Cuajo microbiano marca Cuamex®.

## 6.2.1 Equipo y utensilios

### Utensilios

- 1) Moldes para queso de 15cm de largo y 8cm de ancho y 10 cm de profundidad. Los moldes se elaboraron en acero inoxidable, se lavaron y sanitizarón antes de su uso.
- 2) Liras para corte de cuajada de 11.3 cm de ancho, 25.7 cm de alto y 1 cm de grosor. Marca Dalvich. S.A de C.V.

### Equipo

- 1) Espectrofotómetro de luz UV-Visible Modelo Lambda 2 (Perkin Elmer, Alemania).
- 2) Balanza analítica Mettler Toledo modelo AB-204. Número de serie 1113380257, sensibilidad de 0.0001g y capacidad de 210g (Mettler-Toledo, México).
- 3) Centrífuga Gerber .Wincom 80-3, Mufla (Thermolyne 1500 Fumare, USA). Equipo de digestión micro-Kjeldahl (Labconco, USA). Material de vidrio de uso común en el laboratorio.
- 4) Butirómetros de balance Van Gulik para queso, según método Gerber. Escala 0-40%. . Tolerancia de error 0.5.
- 5) Medidor de actividad de agua Rotronic, modelo AW1SET. Número de catálogo TPM-HP23-AW-ASET (TPM Equipos, México).

## 6.3 Reactivos

Solución de Fehling A y solución de Fehling B alcohol isoamílico, ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado, ácido nítrico ( $HNO_3$ ) concentrado, nitrato de plata ( $AgNO_3$ ), hidróxido de sodio, tiocianato de potasio ( $KSCN$ ), permanganato de potasio ( $KMnO_4$ ), sulfato de potasio ( $K_2SO_4$ ), tiosulfito de sodio ( $Na_2S_2O_3$ ), azul de metileno, fenolftaleína, tolueno, papel filtro Whatman No 40 (Sigma, México).

#### **6.4.1. Diseño experimental**

La toma de muestras y el análisis se realizaron a los 1, 3, 5, 8, 12, 15, 18 y 21 días después de concluido el proceso de prensado de los quesos, que es el periodo que suelen dejarse madurar el queso tipo manchego mexicano. Para realizar las determinaciones se tomaron muestras de aproximadamente 75 gramos de cada queso en cada tratamiento. Se elaboraron cinco diferentes quesos tipo manchego mexicano. En uno de ellos se redujo la lactosa por la técnica de lavado de cuajada, otro no recibió modificación alguna y para los otros tres se enriqueció la leche con lactosa en polvo grado alimenticio. La codificación utilizada fue la siguiente:

M0. Queso elaborado con cuajada reducida en lactosa.

M1. Queso elaborado con contenido normal de lactosa.

M2. Queso elaborado con leche enriquecida con 10 g/L de lactosa.

M3. Queso elaborado con leche enriquecida con 20 g/L de lactosa.

M4. Queso elaborado con leche enriquecida con 50 g/L de lactosa.

##### **6.4.1.1 Reducción de lactosa residual**

La elaboración del queso tipo manchego mexicano con menor contenido de lactosa se llevó a cabo de la según la metodología de (Hou *et al.* , 2012). Consistió en que después del cortado de la cuajada, una parte del suero se sustituyó volumen a volumen, es decir cada litro de suero extraído se adiciono agua tibia a 36°C para extraer más lactosa.

##### **6.4.1.2 Enriquecimiento de lactosa**

El enriquecimiento de la leche con lactosa consisto en adicionar la lactosa a la leche antes del cuajado, con lo cual se logró una mayor concentración y homogeneidad de la lactosa en el queso, se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por (Shakeel-Ur *et al.* , 2004).

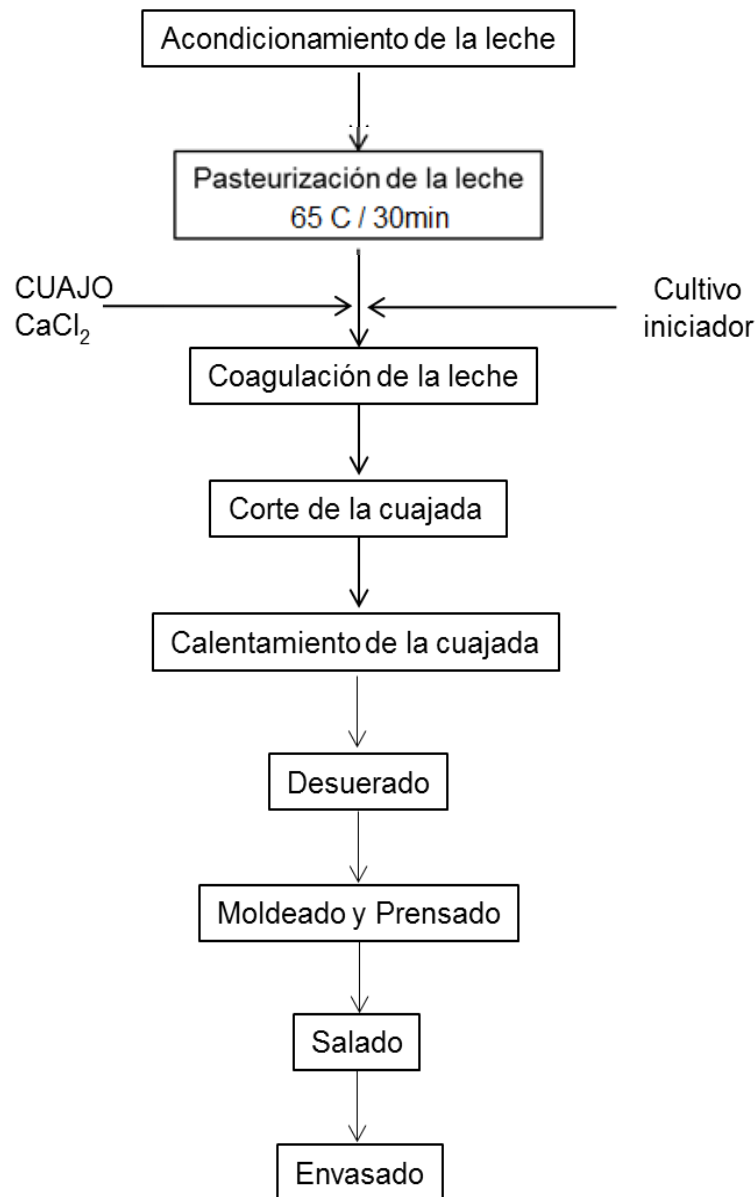


### **6.4.1.3 Elaboración de queso tipo manchego mexicano.**

Para la elaboración de todos los quesos tipo manchego mexicano, se aplicó el procedimiento descrito por el Centro de Estudios de la Leche A. C. el cual consta de los siguientes pasos (Figura 3).

- ❖ Acondicionamiento de la leche. Se determinó la calidad de la leche cruda de acuerdo al proyecto de norma PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012.
- ❖ Pasteurización de la leche. Se utilizó el método de baja temperatura y largo tiempo (LTHT). La leche se calentó a 65°C durante 30 minutos en una marmita de acero inoxidable equipada con chaqueta de vapor.
- ❖ Adición del cultivo iniciador. El cultivo láctico iniciador fue activado previamente, se adicionó a la leche en una proporción al 1% de la leche a cuajar, y se dejó desarrollar por un tiempo de 60 minutos.
- ❖ Cuajado de la leche. De acuerdo a las especificaciones del fabricante, para llevar a cabo la coagulación de la leche se adicionó 1 mL de cuajo por cada 10 L de leche, se homogeneizó y se mantuvo en reposo durante un lapso de 45 minutos.
- ❖ Corte de la cuajada. El corte de la cuajada se realizó mediante el empleo de liras específicas, dejando reposar nuevamente la cuajada en la cuba durante 10 min.
- ❖ Salado de la cuajada. Se adicionó sal de mesa en una proporción al 1% con respecto a la leche coagulada.
- ❖ Se agitó suavemente calentado la cuajada lentamente, aumentando la temperatura en 1°C cada 5 minutos hasta llegar a 47°C.
- ❖ Desuerado. El desuerado de la cuajada se realizó por decantación del suero.
- ❖ Moldeado y prensado. La cuajada se corta en bloques y se colocan en moldes, al inicio se presan ligeramente por 45 minutos, se dio la vuelta a las piezas de queso al término del tiempo y continuó el prensado por otras 5 horas.

- ❖ Maduración. Se retira el queso de la prensa, se separan los moldes y se almacena en refrigeración.
- ❖ Doce horas después se realiza el segundo salado por frotación con 2% de NaCl y la maduración continúa durante 21 días más.
- ❖ Se empacó en bolas plásticas a vacío cuando concluyen los 21 días.



**Figura 3 Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso tipo manchego mexicano. (Silva, 2004).**

## 6.4.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos en el queso tipo manchego mexicano

### 6.4.2.1 Determinación de humedad

La determinación del contenido de humedad en el queso se llevó a cabo por el método de destilación Bidwell-Sterling (Figura 4), utilizando como disolvente tolueno, y de acuerdo con el método 969.19 del AOAC, 1984.

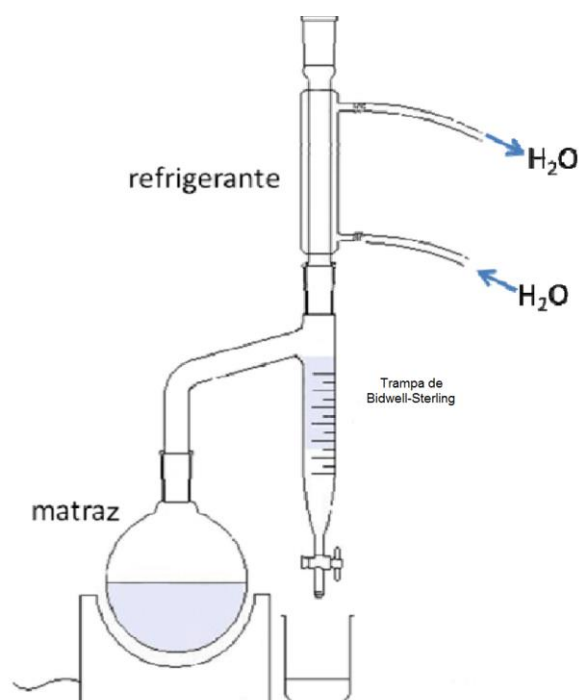
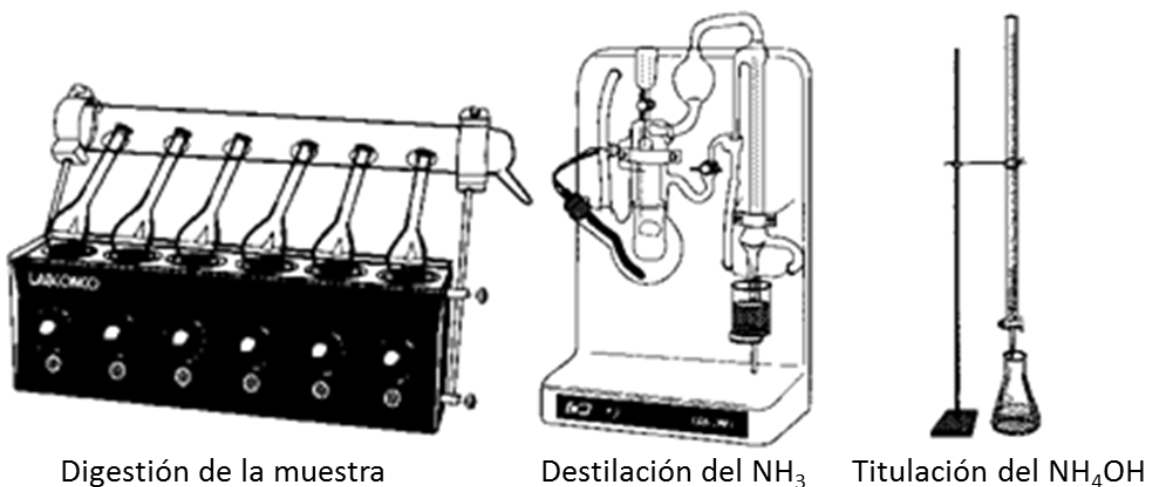


Figura 4. Determinación de humedad por el método de destilación Bidwell-Sterling

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{Agua extraída (g)}}{\text{Peso de la muestra húmeda (g)}} \times 100 \dots (1)$$

### 6.4.2.2 Determinación de proteína

La determinación de proteínas se llevó a cabo por el método de micro-Kjeldahl (Figura 5) método 920.123 del AOAC (1984).



**Figura 5. Determinación de proteínas por el método de micro Kjeldahl**

$$\text{Nitrógeno (\%)} = \frac{V \times N \times 0.014}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100 \dots(2)$$

En donde:

V = Mililitros de ácido clorhídrico valorado utilizados en la titulación.

N = Normalidad de la solución valorada de HCl.

P = Peso de la muestra (g)

Finalmente el % de proteínas en el queso se obtiene multiplicando el porcentaje de nitrógeno por el factor de conversión 6.38

### 6.4.2.3 Determinación de lactosa

La determinación de lactosa en los quesos se realizó de acuerdo a la metodología descrita en la norma NMX-F-509-1988; la cual se basa en el método volumétrico de Lane-Eynon, que consiste en la determinación del volumen de una disolución de la muestra, que se requiere para reducir completamente un volumen conocido del reactivo alcalino de cobre. El punto final se determina por el uso de un indicador

interno, azul de metileno, el cual es reducido a blanco de metileno por un exceso de azúcar reductor.

### **Calculo del factor de Fehling**

Para calcular el factor de Fehling se realiza una solución patrón de lactosa de 10g/L con la cual se valora según el procedimiento de la norma NMX-F-509-1988. Se calcula los miligramos de lactosa que se necesitan para titular la solución A - B. Este valor corresponde al factor (F) del reactivo.

$F = (\text{mL gastados en la titulación}) (\text{concentración de lactosa patrón expresada en g/mL})$

### **Defecación de la muestra de leche**

En esta prueba se requiere eliminar interferencias de compuestos proteicos y otros para ello se realizó el siguiente paso.

Se molieron 2 g de queso y se suspendieron en agua destilada, seguido se adicionaron 5 mL de solución saturada de acetato de zinc y 5 mL solución saturada de ferrocianuro de potasio. La mezcla se llevó a un volumen final de 50 mL en matraz aforado y se filtró en papel Whatman N°40.

### **Titulación de lactosa**

Se usó el filtrado obtenido y se realizó el procedimiento de cuantificación de acuerdo a la norma NMX-F-509-1988 (Figura 6).

### **Cálculos y expresión de resultados**

El contenido de lactosa en las muestras de queso, se determinó de acuerdo con la siguiente ecuación (Ec. 3).

$$\text{Lactosa (\%)} = \frac{F \times 100 \times 250}{V \times Pm} \dots (3)$$

En donde:

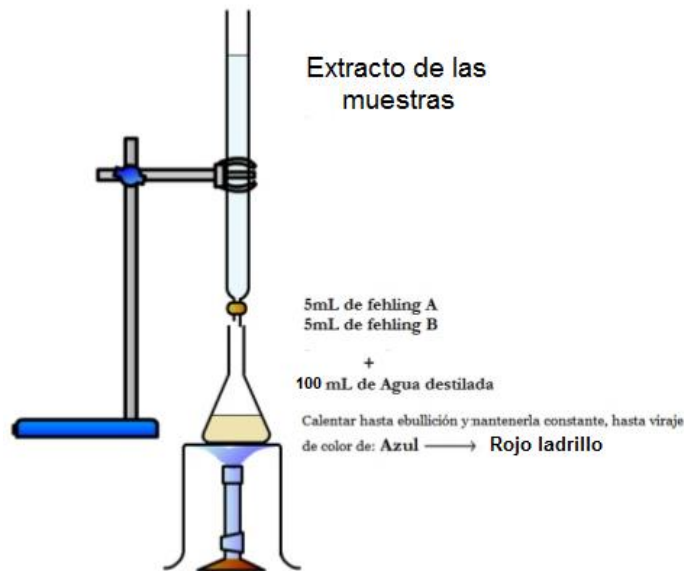
F= Factor del reactivo en miligramos de lactosa.

V= mL del filtrado que se necesitaron para titular la solución .

Pm = peso de la muestra en gramos.

Factor de conversión = 100

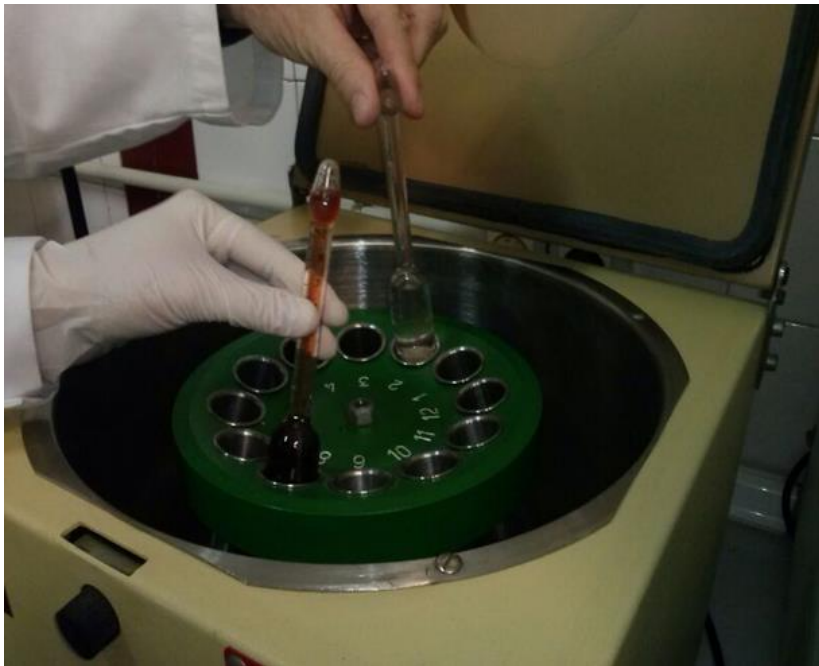
Factor de dilución = 250



**Figura 6. Determinación de lactosa por el método de Fehling**

#### **6.4.2.4 Determinación de grasa**

Se tomó muestras de queso y se siguió el proceso descrito en la norma NMX-F-100-1984. Alimentos lácteos determinación de grasa butírica en quesos. La lectura se realizó de forma directa en los butirómetros. (Figura 7).



**Figura 7. Determinación de grasa por el método de Gerber**

#### **6.4.2.5 Determinación de cloruro de sodio**

La determinación de cloruros en el queso se llevó a cabo de acuerdo a la norma NMX-F-360-S-1981. El contenido de cloruros se obtiene como por ciento de cloruro de sodio, de acuerdo con la siguiente ecuación (Ec. 4).

$$\text{NaCl (\%)} = \frac{(A-B)N \times 0.0585}{M} \times 100 \dots (4)$$

A = (muestra) mL de solución de nitrato de plata 0.1 N agregada en exceso.

B = (blanco) mL de solución de tiocianato de potasio o de amonio 0.1 N, empleados en titular el exceso de nitrato de plata.

N = Normalidad del tiocianato de potasio o de amonio.

M = Peso de la muestra en gramos.

0.0585 = Miliequivalente del cloruro de sodio.

#### 6.4.2.6 Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable en el queso se realizó de acuerdo a la norma NMX-F-420-1982,

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{Fd \times V \times N \times Peq}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100 \dots (5)$$

En donde:

Fd = Factor de dilución (4)

V = Volumen (mL) de NaOH empleados en la titulación

N = Normalidad del NaOH (0.1 N)

C = Peso miliequivalente del ácido láctico (0.09).

D = peso de la muestra en miligramos

#### 6.4.2.7 Determinación de Cenizas.

La determinación del contenido de cenizas en las muestras de queso se llevó a cabo de acuerdo a la norma NMX-F-094-1984.. La cantidad de cenizas contenidas en la muestra se obtiene de la siguiente ecuación (Ec. 6).

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{P_1 - P_2}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100 \dots (6)$$

Dónde:

P<sub>1</sub> = Peso del crisol más cenizas (g).

P<sub>2</sub> = Peso del crisol (g).

#### 6.4.4 Determinación de la actividad de agua (a<sub>w</sub>) en el queso

Para este trabajo la actividad de agua se midió con el aparato Rotronic modelo AW1SET (TPM Equipos, México), el cual mide la actividad acuosa por diferencia de presiones de vapor. La metodología consiste en colocar 1g de queso en una capsula del aparato Rotronic y permitir al equipo hacer la lectura en condiciones estables de



temperatura y presión. El resultado de la actividad de agua presente en el queso se obtiene directamente dentro de un intervalo que va de 0.0001 a 1.000 de  $a_w$ .

## **6.5 Determinación de las propiedades funcionales del queso**

En este estudio solo se consideraron las propiedades funcionales de rallabilidad, extensibilidad y tajabilidad, y se siguió la metodología propuesta por Ramírez. (2010) más una modificación en la prueba de extensibilidad.

### **6.5.1 Rallabilidad**

El método propuesto por Ramírez. (2010) consistió en aplicar una fuerza constante de 4 kg, a un bloque de queso, a través de un rallador que corta al queso en tiras de 4 cm de ancho x 4 cm de altura y 9 cm de largo. Las tiras de queso se seleccionaron mano. Los fragmentos mayores a 1.5cm se clasifican como “tiras largas”, los fragmentos menores a 0.6 cm se clasifican como “tiras cortas” y, los fragmentos menores a 0.6cm son clasificados como “finos”. Finalmente se obtuvo el peso de la fracción de tiras largas y se calculó su porcentaje respecto al peso total del bloque de queso, de acuerdo con la siguiente ecuación (Ec. 8).

$$\% \text{ Rallabilidad} = \frac{X_i}{X_q} \times 100 \dots (8)$$

Donde  $X_i$  es el peso (g) de la fracción de tiras largas,  $X_q$  es el peso del bloque de queso, antes de la operación de rallado.

### **6.5.2 Tajabilidad o rebanabilidad**

Para esta propiedad se aplicó el método propuesto por Ramírez. (2010), donde a un bloque de queso de 2.5Kg se le sacan rebanadas o lonchas con una máquina rebanadora regulada para obtener lonchas de 2mm de grosor. Para evaluar el porcentaje de rebanabilidad, se conformaron dos grupos de lonchas; las íntegras y las defectuosas. Se obtuvo el peso de cada grupo de lonchas y se calculó el porcentaje de lonchas íntegras, de acuerdo a la siguiente ecuación (Ec. 9).

$$\% \text{ Rebanabilidad} = \frac{\text{Peso de lonchas íntegras (g)}}{\text{Peso del bloque de queso}} \times 100 \dots (9)$$

### **6.5.3. Extensibilidad**

En este estudio se utilizó una prueba empírica utilizada en la industria artesanal del queso asadero, que consiste en tomar 5 gramos de queso y calentarlo a 56°C, seguido es estirado suavemente entre los dedos hasta alcanzar la máxima longitud, antes de romperse la hebra. El estiramiento máximo de la hebra se midió en centímetros.

## **6.6 Determinaciones microbiológicas**

### **6.6.1 Determinación de Salmonella**

La determinación del microorganismo patógeno *Salmonella* se realizó de acuerdo con la NOM-114-SSA1-1994. La prueba se aplicó a la leche pasteurizada y a los quesos de cada tratamiento.

### **6.6.2. Crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL)**

Uno de los objetivos para obtener una buena calidad en el queso manchego mexicano fue lograr el crecimiento exclusivamente del cultivo iniciador integrado por *Lactococcus lactis* y *Lactococcus lactis subespecie cremoris*, dando seguimiento al crecimiento del cultivo iniciador durante 21 días, ello se llevó a cabo por la técnica de vaciado en placa, empleando el medio de cultivo MRS (Man, Rogosa y Sharpe).

### **6.7 Evaluación de la pasteurización por prueba de fosfatasa**

La prueba se basa en el hecho de que la enzima natural fosfatasa está presente siempre en la leche cruda, pero es destruida a la temperatura necesaria para una pasteurización eficiente. Por tanto la ausencia de fosfatasa en leche se toma como indicador de una pasteurización eficiente. En este trabajo se utilizó el kit comercial de prueba de fosfatasa LACTO-ZYMA® HYCEL No 610.

## 6.8. Evaluación sensorial de los quesos

La evaluación sensorial se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Pastor (2008). Se realizaron 36 entrevistas a jueces no entrenados que tienen como características comunes: 1) ser consumidores de quesos 2) conocen o han probado el queso manchego 3) viven en la región Ciénega de Chapala 4) Son mayores de edad y 5) se les instruyó como plasmar su opinión.

Se realizaron 2 pruebas diferentes: 1) La prueba de atributos permitió conocer si existía diferencia significativa entre tratamientos 2) Un análisis de perfil de sabor para conocer las características sensoriales que se perciben del queso tipo manchego mexicano y su intensidad relativa. También se empleó una muestra comercial de queso, manchego que también se comparó con los tratamientos.

*Prueba de atributos* (Apéndice 1). Esta prueba que consistió en evaluar los parámetros que más influyen en la calidad sensorial de los diferentes tipos de quesos obtenidos como son: dulzor, acidez, aroma, sabor y textura. En esta prueba el panelista eligió para cada atributo una de las opciones asignado una marca dentro de una escala hedónica de 5 cm. Donde 5 es buena y 1 es deficiente. Los resultados se expresaron en un diagrama de perfil de sabor.

*Pruebas de preferencia* (Apéndice 2). Esta prueba se utiliza cuando se quiere comparar un alimento con relación a otro similar que ya se encuentra en el mercado. Es una prueba sencilla en donde se responde a la pregunta ¿Cuál prefiere? En esta prueba el panelista dio un orden de preferencia a cada uno de los quesos, aplicando la escala donde 6 es más preferido y 1 es menos preferido. Para el análisis de resultados se aplicó la prueba de Friedman, donde debe tenerse en cuenta que para este trabajo es una prueba de dos colas porque se comparan todos los tratamientos entre sí. La metodología consistió en:

1. Asignar puntuaciones a las muestras según el orden que se le haya dado.
2. Obtener la suma total de puntos para cada tratamiento después que han sido ordenados.
3. Calcular el valor de Chi cuadrado experimental, según la formula siguiente:

$$\chi^2_{\text{exp}} = \frac{12}{nK(K+1)} \sum_{i=1}^K R_i^2 - 3n(K+1)$$

Dónde:

K= número de tratamientos.

R<sub>i</sub>= suma de puntos totales por muestra.

4. Buscar  $\chi^2_{\text{tab}}$  en la tabla correspondiente para un nivel de significación elegido y K-1= grados de libertad
5. Comparar  $\chi^2_{\text{exp}}$  con  $\chi^2_{\text{tab}}$ .
6. Si  $\chi^2_{\text{exp}} \leq \chi^2_{\text{tab}}$  " No hay diferencia significativa entre las muestras para un nivel de significación dado.

Si  $\chi^2_{\text{exp}} > \chi^2_{\text{tab}}$  " Hay diferencia entre las muestras para un determinado nivel de significación.

Resultados posibles

1. Si no hay diferencia entre las muestras se concluye el análisis,
2. De lo contrario es necesario precisar cuáles son los tratamientos diferentes, de ahí que sea necesario calcular la diferencia mínima significativa (DMS)

$$DMS = Q \sqrt{\frac{nK(K+1)}{12}}$$

Dónde:

Q= Valor tabulado según K y nivel de significación establecido

n= número de juicios totales.

K= número de tratamientos.

3. Se determina el valor modular de la diferencia de puntuación total de los tratamientos, realizando todas las combinaciones posibles y se compara con el valor de DMS calculado.
4. Si  $|R_i1 - R_i2| > DMS$  " Hay diferencia significativa para el valor de alfa elegido.
5. Si  $|R_i1 - R_i2| \leq DMS$  " No hay diferencia significativa para el valor de alfa elegido. Métodos de evaluación

La prueba chi cuadrado se realizó para comparar si las muestras son diferentes significativamente o no. La prueba DMS permitió conocer cuales tratamientos son diferentes y similares entre sí.

## 6.9 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados que se muestran corresponden al valor medio  $\pm$  la desviación estándar de la serie. Por otra parte, para conocer y dar certeza de los resultados se realizaron las siguientes pruebas estadísticas:

- Andeva de una vía a la concentración de lactosa en días de maduración.
- Andeva de una vía a la concentración de lactosa y el crecimiento de BAL
- Prueba de Tukey LSD entre tratamientos.
- Análisis de sensorial de preferencia y perfil de atributos

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software R-project R version 3.2.4 Revised (2016-03-16 r70336) "Very Secure Dishes" Copyright (C) 2016 The R Foundation for Statistical Computing Platform: i386-w64-mingw32/i386 (32-bit)

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Calidad de la leche:

La elaboración de un buen queso inicia con leche de buena calidad, esto es refiriéndose tanto a su composición química como a su calidad sanitaria o composición microbiológica. Para conocer la calidad de la leche, en este trabajo se analizó la leche de acuerdo con la, NMX-F-700-COFOCALEC-2012. Los estudios de Bernal *et al.* ( 2007) realizados a zonas ganaderas campesinas en diversas áreas muestran que la composición de la leche varía por regiones principalmente debido a la alimentación disponible para el ganado en cada región. (Álvarez-fuentes, Herrera-Haro, Alonso-Bastida, y Barreras-Serrano, 2012).

En la Tabla 6 se muestran los resultados de las determinaciones de leche, en ellos se observa que la leche utilizada supera los contenidos mínimos de calidad que establece la Norma Mexicana, NMX-F-700-COFOCALEC-2012, en cuanto a la composición química de la leche; se concluye que se trata de una leche entera y no adulterada, ni rebajada con agua, tal como lo muestra su punto crioscópico.

**Tabla 6 Composición de la leche utilizada en la preparación del queso**

Parámetro	Contenido	NOM-155-SCFI-2003
Proteínas (g/L)	35.66 ± 0.45	32.00
Grasas (g/L)	36.06 ± 1.07	31.00
Punto crioscópico (°C)	-0.534 ± 0.002	-0.515 a -0.536
Sólidos no grasos (g/L)	91.50 ± 0.077	83.00 mínimo
Acidez (g de ac. láctico/L)	1.46 ± 0.047	1.30 – 1.60
Lactosa (g/L)	37 ± 2.05	43 a 50

### 7.1.2 Pasteurización de la leche

Para la elaboración del queso tipo manchego mexicano fue necesario asegurar una adecuada pasteurización de la leche, con el objeto de eliminar las bacterias patógenas no deseadas, así como bacterias presentes en la leche que provengan del medio ambiente, de esta forma se evitó el peligro principal que son los microorganismos patógenos como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella sp*, *Shigella sp* y otros causantes de enfermedades severas para el ser humano.

El procedimiento de pasteurización aplicado en este trabajo fue de 65<sup>0</sup>C/30min mismo que establece la norma mexicana NOM-155-SCFI-2012, ese tratamiento es recomendado para pequeños productores de queso por ser fácil y de bajo costo. Para corroborar que se haya alcanzado la temperatura necesaria se dio seguimiento con un termómetro de mercurio hasta alcanzar los 65<sup>0</sup>C y sostenerlos por 30 minutos.

Para corroborar la eficiencia de la pasteurización se realizó la prueba de la destrucción de la enzima fosfatasa alcalina por efecto del calor, esta se empleó como evidencia de que la temperatura alcanzada fue suficiente para desactivar la enzima, y se hayan eliminado a los microorganismos patógenos presentes en la leche. También se buscó la presencia del microorganismo *Salmonella sp* en la leche pasteurizada como un indicador más de la inocuidad y efectividad del proceso de pasteurización, los resultados fueron los siguientes (Tabla 7).

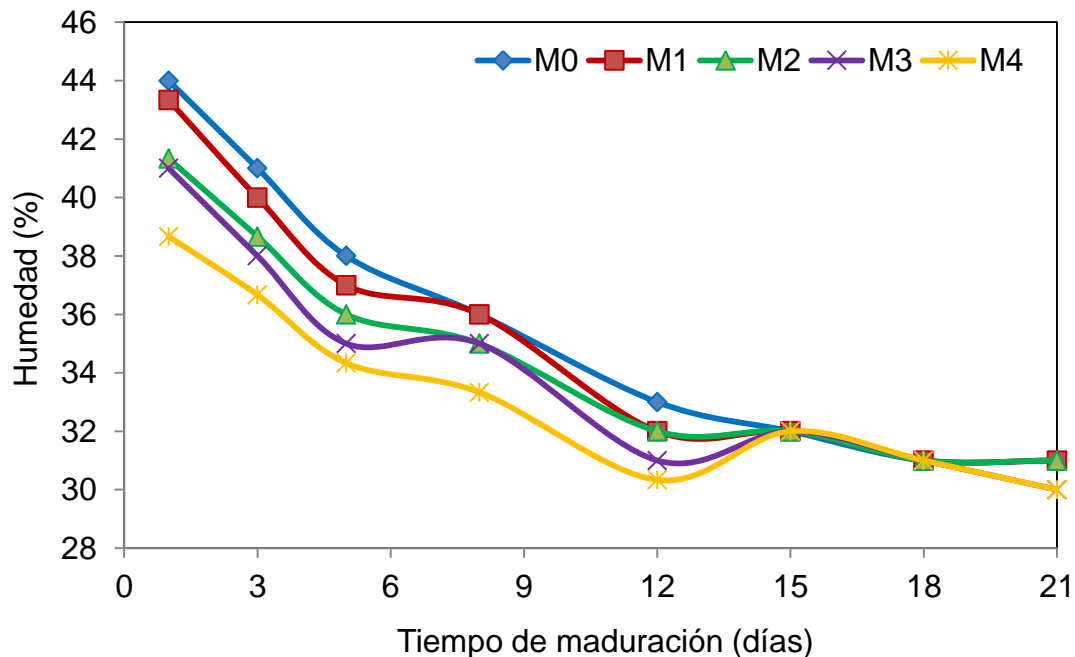
**Tabla 7. Resultados de la pasteurización de la leche**

Determinación	Resultado	Interpretación
Fosfatasa alcalina	Negativa	Correcta pasteurización y cumple con lo estipulado por la NOM
Salmonella sp	Ausente en 25 mL	Ausencia y cumple con lo estipulado por la NOM....

## 7.2. Evaluación de la composición química de los quesos durante el periodo de maduración

### 7.2.1 Variación del contenido de humedad

En este estudio se observó que el contenido de humedad en los quesos va disminuyendo a medida que transcurre el tiempo de maduración (Figura 8), se observa también que después de 15 días, la humedad alcanzó su valor mínimo en los distintos tratamientos y ya no hubo variación en su contenido de humedad en los siguientes días del periodo de maduración. Después del día 15 la cantidad de agua libre es muy baja y se conserva el queso en óptimas condiciones. Bertola, Califano, Bevilacqua, y Zaritzky, (1996) encontraron que cuando el queso mozzarella se congelaba del día 14 al 20 de maduración, las propiedades funcionales no se alteraban al congelarse y descongelarse ya que para esos días el agua libre era mínima y no impactaba en los efectos de proteólisis dentro de la matriz del queso al descongelarse.



**Figura 8. Variación del contenido de humedad durante la maduración de los quesos.**



Para el queso tipo manchego mexicano se pudo apreciar que al inicio, el contenido de humedad fue de 44% en el tratamiento con cuajada lavada (M0), y disminuyó gradualmente a medida que se incrementó el contenido de lactosa en los demás tratamientos, siendo la humedad mínima de 38.67% (M4) en el queso con el mayor contenido de lactosa. Por tanto los enriquecimientos de lactosa afectaron la humedad del queso desde el inicio.

Por otra parte el contenido de humedad es un factor de gran importancia en la calidad del queso ya que permite o limita el desarrollo del cultivo iniciador, debido a que la actividad acuosa ( $a_w$ ) disminuyó a medida que disminuyó el contenido de humedad en el queso, creando condiciones de stress para el cultivo láctico, y dando como resultado, el que se ralentice la producción de ácido láctico en la etapa de maduración. Estas condiciones forman parte del proceso, ya que la reducción de la humedad es un factor que debe ocurrir en la maduración del queso manchego mexicano, porque permite detener o ralentizar el proceso de maduración del queso y con ello que le da al queso un mayor tiempo de vida que puede ser de hasta de varios meses.

En el proceso bioquímico de maduración la pérdida de humedad ocasionó un cambio continuo de condiciones en las variables que afectan al cultivo iniciador. Esto somete al cultivo iniciador a un cambio de condiciones, pasando de un estado inicial óptimo de alta humedad a un estado de stress por la baja humedad y finalmente a un estado de fase de muerte por condiciones desfavorables. Aunque como señalan Litopoulou-Zanetaki, Tzanetakis, y Vafapoulou-Mastrojiannaki, (1993) no solo la humedad afecta al cultivo indicador sino también el pH, y la sal que se modifican en la maduración provocando efectos en el crecimiento del cultivo iniciador. Según Guo y Kindstedt, (1995) señalan que en quesos como el cheddar y similares el suero que sale durante el proceso de secado y maduración, es una mezcla de dos fases; una acuosa y una lipídica consistente en grasa líquida, pero en el caso del queso tipo manchego mexicano la maduración es a una temperatura de refrigeración de 8 °C donde la

grasa se encuentra sólida, y el suero es casi en su totalidad fase acuosa que es volatilizada por el aire seco y frío de la cámara de refrigeración.

### 7.2.2 Variación de la actividad de agua

Durante la maduración de los quesos se presentó una pérdida gradual y sostenida de su contenido de humedad, así como cambios en la composición, todo ello modificó la actividad del agua (Rémi, Pajonk, y Julien, 2004), así como un cambio en el metabolismo, reacciones enzimáticas y autólisis del cultivo (McMahon *et al.*, 2005), lo anterior repercute en la apariencia y textura del queso. La variación de la actividad de agua se determinó a los días 3, 8 y 18 del proceso de maduración de los quesos (Figura 9). También se observó una tendencia de disminución del  $a_w$  al igual que en el trabajo de Hickey *et al.* (2013) en queso cheddar. Al analizar el comportamiento de la  $a_w$  en el queso se observó una tendencia a disminuir, aunque en el tratamiento M0 para el día 18 se observó un aumento del  $a_w$ , la razón de esto es que para ese día el pH en ese queso era menor a 5.3 y ocurrió el efecto de desnaturalización de la proteína por acidez, lo que ocasionó que parte del agua ligada se liberara y aumentó la  $a_w$  debido a esto ocurrió un reblandecimiento y una sinéresis en el queso.

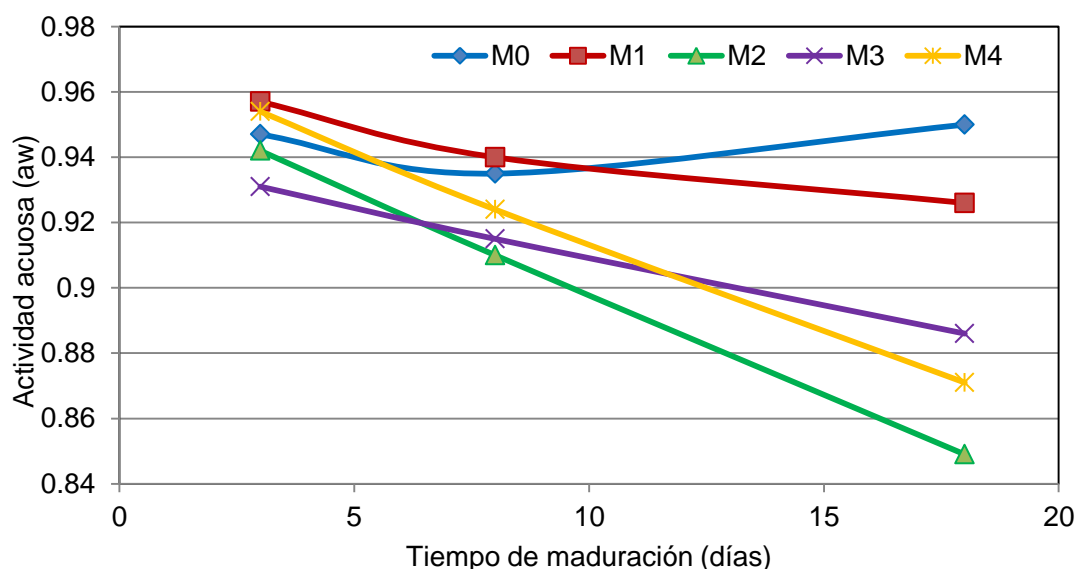
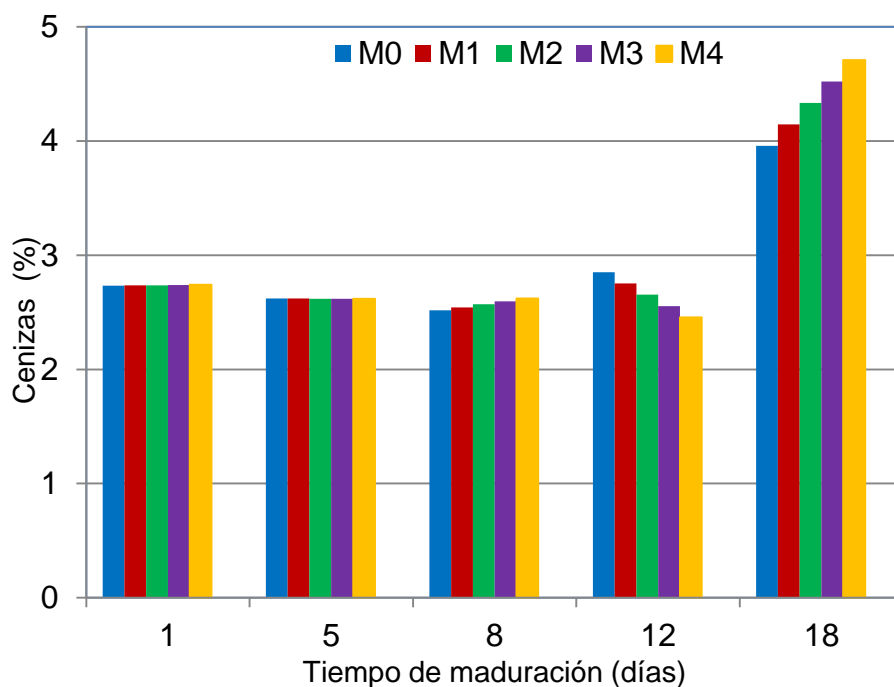


Figura 9. Variación de  $a_w$  durante la maduración de los quesos.

### 7.2.3 Variación del contenido de cenizas

Las cenizas de un producto alimentario constituyen el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica a una temperatura no mayor de 550°C (Badui, 1997). La ceniza obtenida no tiene necesariamente la misma composición que la materia inorgánica del alimento original, ya que puede haber pérdidas por volatilización o algunos cambios por interacción de los constituyentes. El valor de las cenizas se puede considerar como una medida general de calidad y a menudo, es un criterio útil en la identificación de la autenticidad de un alimento (Badui, 1997).

La variación del contenido de cenizas durante la maduración de los quesos manchegos se presenta en la Figura 10. Se puede observar que durante los primeros doce días de iniciado el proceso de maduración, no existió una diferencia estadística significativa en el contenido de cenizas en los diferentes quesos (Anexo 3, Tabla 10), pero el contenido de cenizas se incrementó en el día 18, probablemente debido a la pérdida de humedad y por ende a la concentración que sufren todos los constituyentes del queso, entre ellos incluidas las cenizas.



**Figura 10. Variación del contenido de cenizas durante la maduración de los quesos.**

### 7.2.4 Variación del contenido de cloruro de sodio

La variación del contenido de cloruro de sodio (NaCl) durante el proceso de maduración de los quesos se presenta en la Figura 11. Se pudo observar que, aun cuando los quesos se sometieron a un mismo proceso de salado, su contenido de NaCl al inicio del proceso de maduración (día 1) es mayor en todos los tratamientos y disminuye gradualmente hasta el día 8, para posteriormente estabilizarse durante el resto del tiempo de maduración. Por otro lado el contenido de cloruro de sodio (NaCl) siempre fue menor en los quesos elaborados con cuajada lavada (M0), y se incrementó ligeramente a medida que se incrementó el contenido de lactosa en los tratamientos (M1, M2, M3 y M4). Del día 8 en adelante, no existió una diferencia estadística significativa en el contenido de NaCl en un mismo tipo de queso, pero si existió diferencia estadística significativa en el contenido de NaCl entre los diferentes tratamientos (Anexo 3, Tabla 11), la razón de esto es que una mayor cantidad de lactosa genera cambios en la solvatación de agua y componentes disueltos en esta.

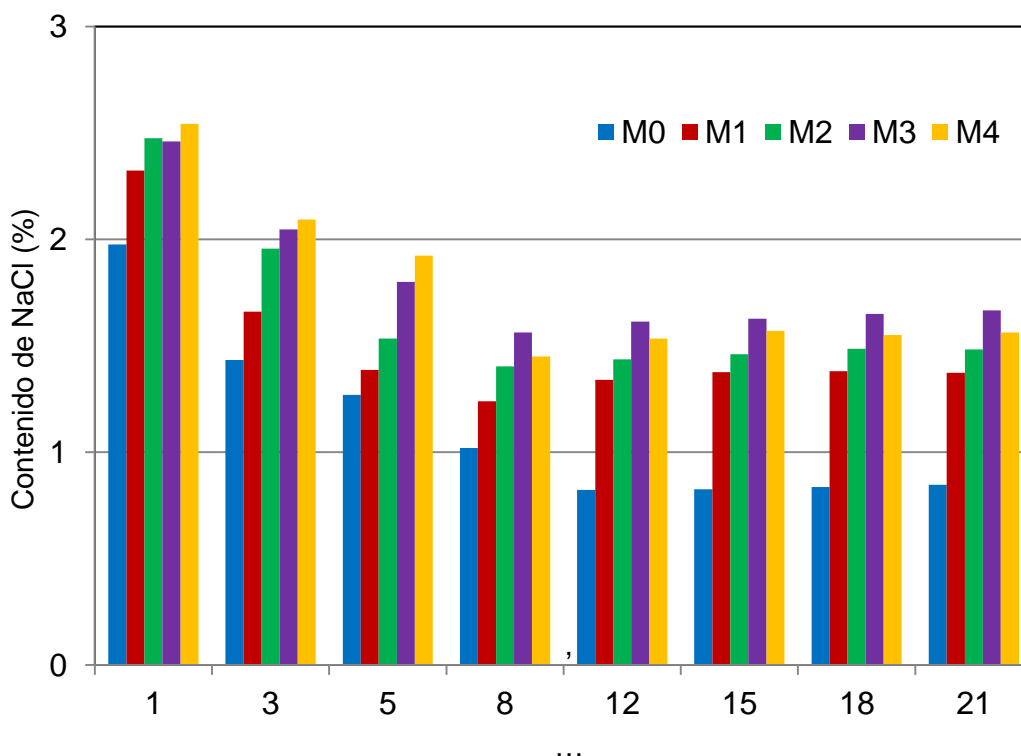
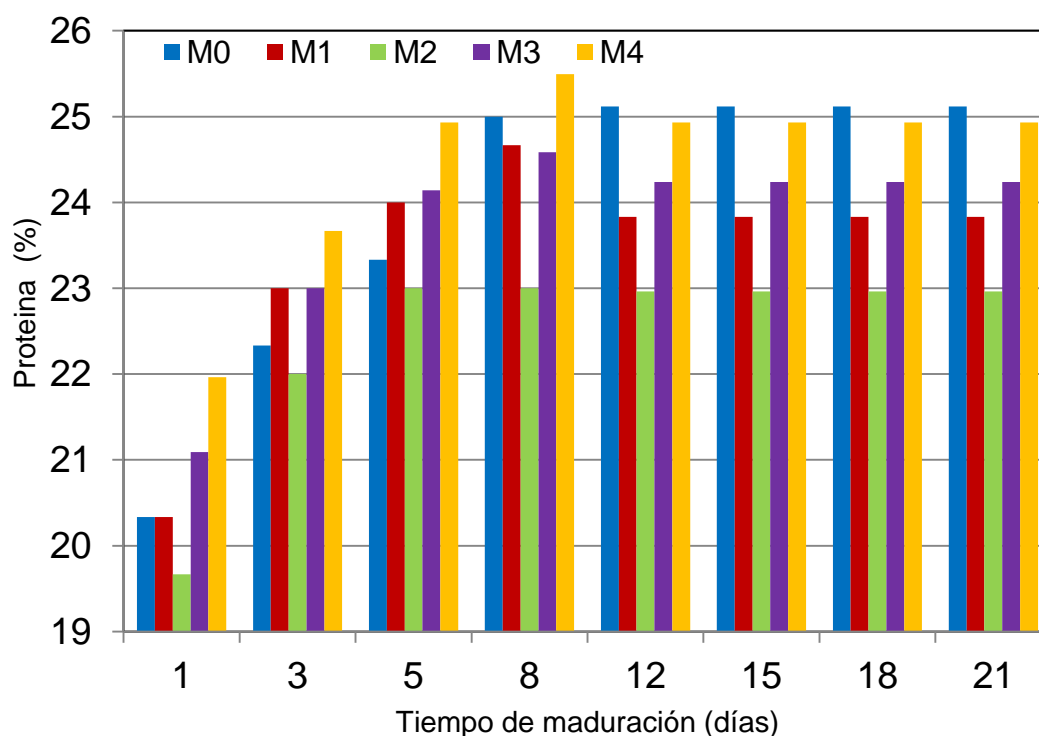


Figura 11. Variación del contenido de NaCl durante la maduración de los quesos.

Al correlacionar el cloruro de sodio al análisis sensorial, se observó que el tratamiento M0 con menor cantidad de sal (NaCl) obtuvo una menor puntuación en la prueba de aceptación del consumidor, en comparación con los quesos de los otros tratamientos. Esto se debe a que el cloruro de sodio ayuda a bajar la  $a_w$ , inhibir un poco al cultivo iniciador y las enzimas proteolíticas como la quimosina y la plasmina. (Mistry y Kasperson, 1998).

### 7.2.5 Variación del contenido de proteína

La variación del contenido de proteína con respecto al tiempo de maduración de los quesos se muestra en la Figura 12. No se percibe una disminución en el contenido de proteína por el efecto del incremento en la concentración de lactosa en los quesos, lo que si se observa es que independiente de la concentración de lactosa, se presenta un ligero incremento en el contenido de proteína a medida que se incrementa el tiempo de maduración de los quesos hasta el día 8, y permanece prácticamente constante a mayores tiempos de maduración.



**Figura 12. Variación del contenido de proteína durante la maduración de los quesos.**

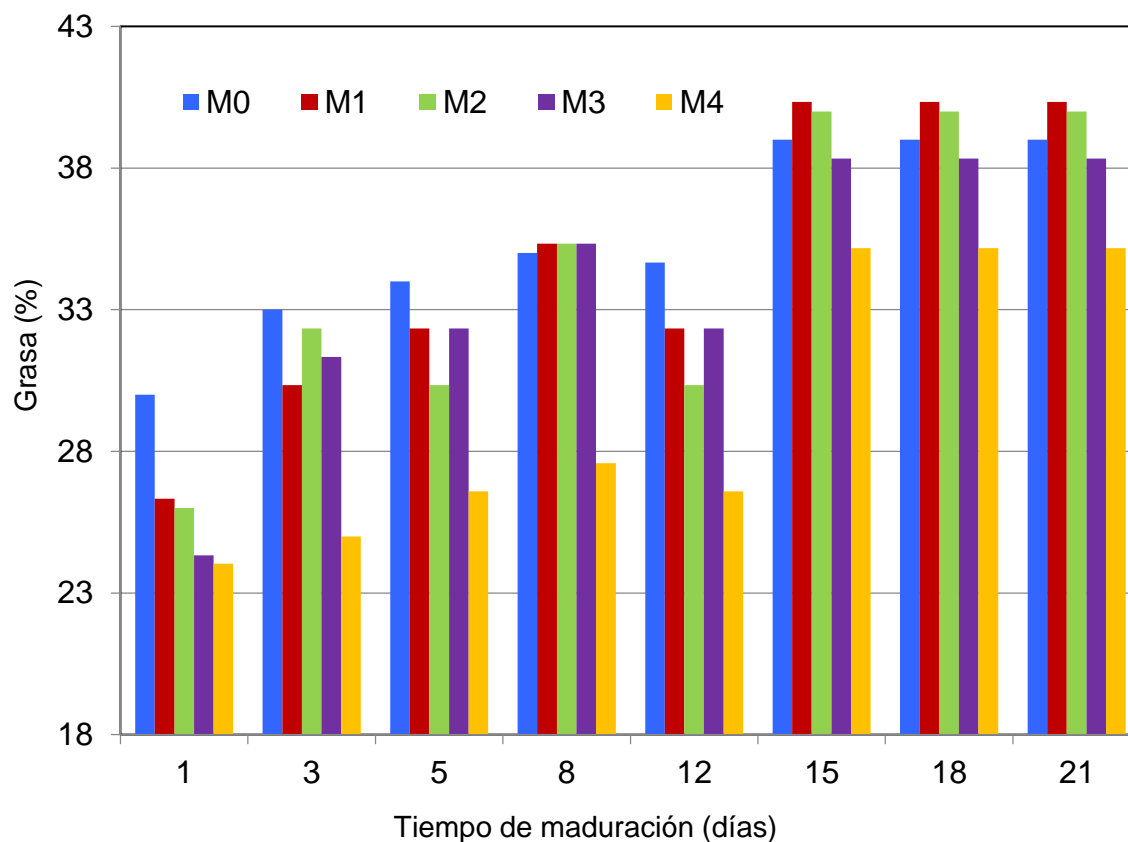
Este incremento en el contenido de proteínas se atribuye a la pérdida de humedad, con la consecuente concentración de los componentes del queso. El método de Kjeldahl mide proteína total de forma indirecta pero no habla de su condición, si bien los quesos no pierden proteína, su condición varía drásticamente lo que se puede observar en la evaluación de las propiedades funcionales, ya que del día 8 en adelante, la proteína se encontró desnaturalizada en el tratamiento M0, porque se observa una pérdida de las propiedades funcionales. En este trabajo no se midió la peptidización de la caseína que se según Sousa, Mcsweeney, y Ardo. ( 2001) la principal proteólisis es generada por la quimosina del cuajo, la plasmina y otro tanto por el cultivo de iniciador, aunque cabe destacar que en los quesos tipo manchego mexicano elaborados en este trabajo se utilizó leche pasteurizada con lo que se eliminó la proteólisis debido a que la enzima plasmina que es termolábil al calor.

El reblandecimiento del queso es un defecto que se atribuye a las modificaciones en la matriz del queso, que se deben a cambios de la proteína en su estructura cuaternaria y terciaria por efecto del pH, una peptidización por las enzimas del cultivo iniciador, más la actividad de la enzima quimosina (cuajo), todo ello crea cambios en la estructura proteica del queso que afectan la rigidez y la absorción de agua en la matriz (Mazerolles *et al.* , 2001). El fenómeno se asocia a la actividad microbiana que por un lado disminuye el pH y por otro, es posible que tome a la caseína como fuente de carbono y nitrógeno, provocando también su desnaturalización.

#### **7.2.6 Variación del contenido de grasa**

La Figura 13 muestra la variación del contenido de grasa durante el proceso de maduración de los quesos elaborados con diferente concentración de lactosa residual. En el día 1 el contenido de grasa disminuyó ligeramente a medida que se incrementó la concentración de lactosa en los quesos. En los siguientes días independientemente del contenido de lactosa, se presentó un ligero incremento en el contenido de grasa conforme avanzó el tiempo de maduración de los quesos. Este incremento se atribuye a la pérdida gradual de humedad que se presenta en los

quesos durante el periodo de maduración, y al disminuir el contenido de humedad, se genera una ligera concentración del resto de los componentes del queso. El contenido de grasa en los quesos fue máximo a los 15 días del proceso de maduración. En los días siguientes no hubo una diferencia estadística significativa en el contenido de grasa de los quesos en cada tratamiento (Anexo N°, Tabla 13).



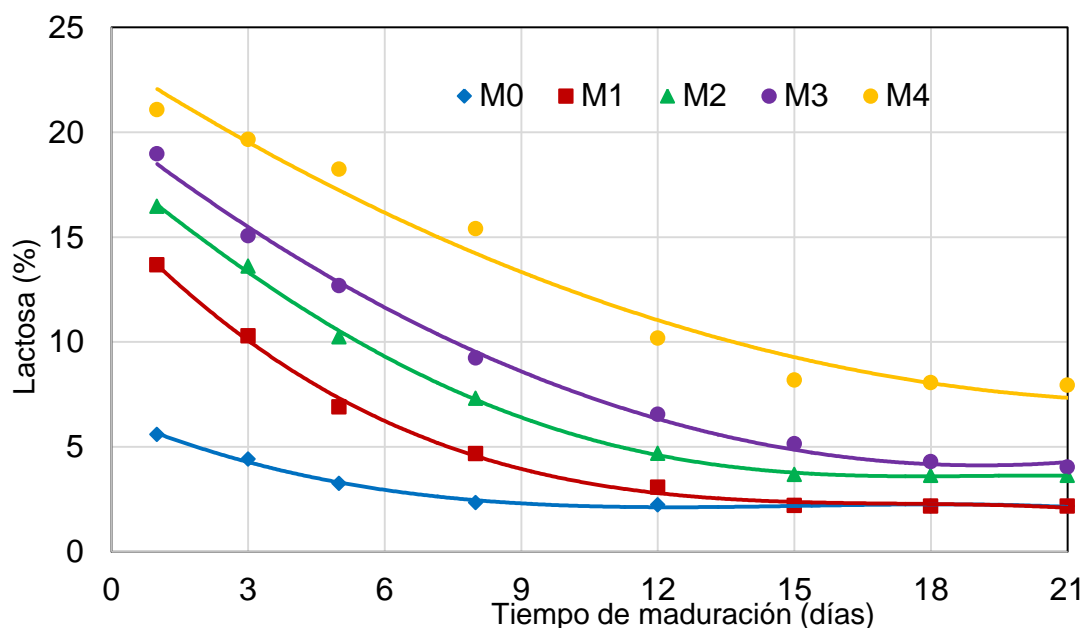
**Figura 13. Variación del contenido de grasa durante la maduración de los quesos.**

### 7.2.7 Variación del contenido de lactosa

Para estudiar el efecto de la concentración de lactosa en la calidad del queso tipo manchego mexicano, se elaboraron cinco quesos con diferentes concentraciones de lactosa y se monitoreó la variación del contenido de lactosa durante todo el periodo de maduración de los quesos (21 días). Para el tratamiento M0 se requirió reducir la concentración de lactosa residual en el queso, para lo cual se utilizó la técnica de

cuajada lavada con agua ((Hou *et al.* , 2014). El tratamiento M1 corresponde al queso que se obtiene normalmente, sin modificar la concentración de lactosa, el cual sirvió como control o testigo en este estudio. Los tratamientos M2, M3, y M4 corresponden a quesos en los que se ha modificado la concentración de lactosa, mediante la adición de este disacárido en la leche (Shakeel-Ur *et al.*, 2004). Los resultados sobre la variación de la concentración de lactosa con respecto al tiempo de maduración de los quesos se muestran en la figura 14.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos (Anexo 3, Tabla 15) muestra que existe una diferencia estadística significativa entre cada uno de los tratamientos en la cinética de conversión de lactosa a ácido láctico. La concentración de lactosa residual en todos los quesos disminuyó rápidamente durante los primeros 12 días del periodo de maduración, en los días posteriores la concentración de lactosa residual en los quesos se estabilizó y permaneció prácticamente constante en cada uno de los tratamientos, pues no existió una diferencia estadística significativa en la concentración de lactosa residual entre los días 15, 18 y 21 en cada tratamiento.



**Figura 14. Variación del contenido de lactosa durante la maduración de los quesos.**



El análisis entre los tratamientos mostró que en todos ellos existe una reducción en la lactosa residual que sigue la misma tendencia. Pero no fue la misma tendencia en los tratamientos M2, M3, M4 cuando se comparó con la producción de ácido láctico y la modificación de las propiedades funcionales, se esperaba que al incrementarse la lactosa, la producción de ácido láctico fuese mayor y más rápida para con ello madurar y obtener el queso en menor tiempo, como lo señalan Shakeel-Ur *et al.* (2004), quienes lograron acelerar la maduración de los quesos, aplicando enriquecimientos de lactosa de 0.6 a 2.21%, pero en este trabajo el enriquecimiento de lactosa fue mayor entre 3.1 a 13%, el resultado obtenido fue que se produjo un aumento en el tiempo de maduración. A esas concentraciones de lactosa las condiciones de osmolaridad debido a los sólidos totales, cambian fuertemente para el cultivo y se observó una inhibición en la producción de ácido láctico, pero no se inhibe el cultivo de *Lactococcus* (De Ruyter *et al.*, 1996); (Abdel-rahman, Tashiro, y Sonomoto, 2013); (Pisano *et al.* , 2015).

Lo anterior puede explicar sucesos que ocurren en quesos fermentados o madurados rápidamente, donde al adicionar leche en polvo descremada con altos contenidos de lactosa, al inicio de la fermentación hay una escasa producción de ácido láctico durante muchas horas, pero tiempo después comienza la producción de ácido láctico de una manera muy intensa. Este evento en la producción artesanal suele tomar por sorpresa y causar confusión acerca del proceso de fermentación. En el caso del queso tipo manchego mexicano, la etapa de producción intensiva de ácido láctico en los tratamientos enriquecidos con lactosa, no alcanza a ocurrir, el fenómeno cambia debido a que las condiciones que afectan al cultivo iniciador son diferentes ya que se madura en refrigeración.

En este trabajo se observó que los tratamientos enriquecidos con lactosa tuvieron altas cuentas viables de UFC, pero al parecer no se habían roto la barrera de la inhibición de producción de ácido láctico, lo que desencadenaría una producción muy alta de ácido láctico, todo ello siguiendo el proceso de producción de queso tipo

manchego mexicano descrito por Silva. (2004). En donde las condiciones de maduración del queso tipo manchego mexicano se llevan en refrigeración (8°C), y la pérdida de humedad ocurre por secado de aire principalmente. Sin embargo los tratamientos enriquecidos en lactosa mostraron la inhibición parcial de la producción de ácido láctico y pero no la inhibición del crecimiento del cultivo, porque no se observó un repentino aumento de acidez a pesar de las cuentas microbianas. Aunque también para el día 12 la humedad y actividad acuosa ya no eran favorables para el cultivo iniciador lo cual también ocasiono disminución de su crecimiento.

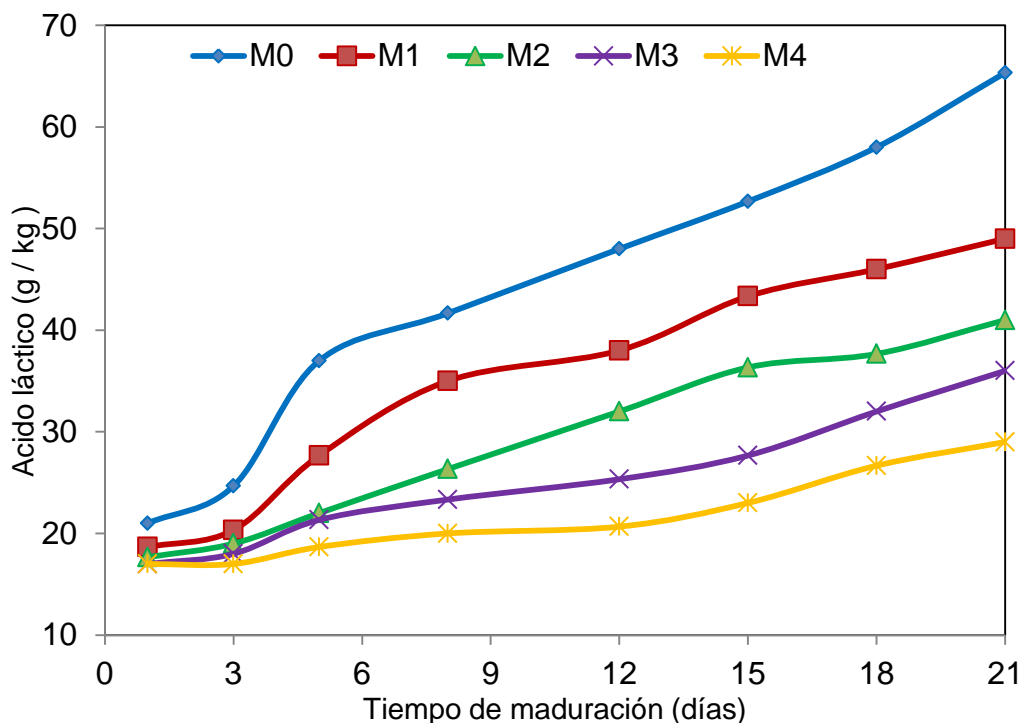
Realizando comparaciones de maduración: los tratamientos M0, M1, M2 y M3 alcanzaron la madurez, pero el queso del tratamiento M4 no alcanzo la madurez ni las propiedades funcionales para el día 21.

#### **7.2.8 Producción de ácido láctico.**

El desarrollo de acidez cambia la estructura de la matriz del queso y permite el desarrollo de propiedades funcionales deseables para la comercialización del queso como la extensibilidad, tajabilidad y rallabilidad. En este trabajo se observó que la cantidad de ácido aumentó de forma continua en los tratamientos, pero en el tratamiento cuajada lavada (M0) sobrepaso el límite de acidez requerido en el cual la caseína desarrolla la máxima polimerización en la extensibilidad. Por tanto cuando se excedió la acidez se perdieron las propiedades funcionales, al generar una proteólisis y otros cambios no deseables.

En todos los tratamientos la velocidad de producción de acidez (pendiente de las curvas) fue mayor durante los primeros seis días del proceso de maduración de los quesos. Posteriormente la velocidad de producción de acidez disminuyo en todos los tratamientos, aunque siempre fue mayor en el tratamiento de cuajada lavada. Se observó que a medida que se incrementó la concentración de lactosa residual en los quesos también disminuyó gradualmente la producción de ácido láctico.

En la Figura 15 se presentan los resultados obtenidos sobre la producción de acidez (g de ácido láctico / kg de queso) durante el proceso de maduración de los quesos.



**Figura 15. Variación de la producción de ácido láctico durante el proceso de maduración de los quesos.**

Debe considerarse que el ácido láctico producido es acumulado durante la maduración, es decir una vez que se forma es estable y no se degrada fácilmente, esto es importante porque si la maduración no se ralentiza se puede generar tanto ácido láctico que provoca la precipitación e hidrólisis de caseínas, este defecto ocasiona la pérdida de las propiedades funcionales del queso como se observó en el tratamiento M0.

El ácido láctico es el principal ácido orgánico presente en la leche, por lo que la acidez de ésta se debe casi exclusivamente a la presencia de éste ácido, aunque también existen pequeñas cantidades de otros ácidos orgánicos como el ácido cítrico

acético y propiónico, así como diacetilo y CO<sub>2</sub>. Dado que las bacterias ácido lácticas utilizan la lactosa como fuente principal de energía la cual convierten en ácido láctico.

La estimación de ácido láctico se midió como acidez titulable, la cual refleja de forma indirecta el desarrollo microbiano en el queso, aunque como lo señala Abdel-Rahman *et al.* (2013) las rutas metabólicas de los microorganismos suelen modificarse por condiciones del medio de crecimiento y con ello, generar biomasa u otros metabolitos, es decir, a pesar de ser bacterias homofermentativas, estas se adaptaran a otras condiciones y otro metabolismo. Por lo tanto la adición de lactosa modifica el metabolismo normal, ralentizando la producción de acidez, esta característica puede utilizarse para controlar la cinética de producción de acidez y ajustarla con el día en que se espera tener el queso madurado.

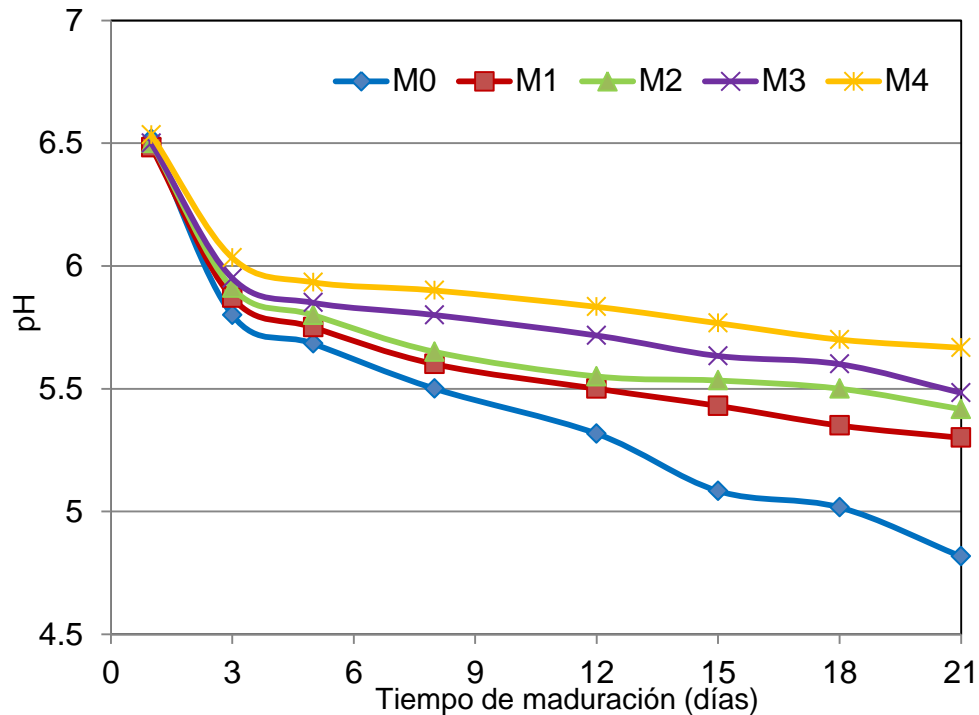
#### **7.2.9 Variación del pH durante la maduración.**

El pH es una forma indirecta de conocer la acidez de una sustancia y relacionarlo con la afectación a otros ingredientes, es posible también con este parámetro visualizar de forma indirecta el desarrollo del cultivo láctico, así como el desarrollo de los atributos de calidad en el proceso de maduración de los quesos.

Como era de esperarse, esta representación gráfica resulta completamente inversa a la de acidez, pues a medida que se incrementa la acidez de los quesos, su pH disminuye, dado que la relación entre dichos parámetros está dado por la expresión matemática  $pH = 1/\log [H^+]$ ; en donde  $[H^+]$  representa la concentración molar de iones hidronio, parámetro relacionado directamente con la concentración molar del ácido láctico.

En este estudio el pH para todos los casos, se observó que la velocidad de descenso del pH fue mayor durante los primeros tres días de maduración, pero a mayores tiempos de maduración, el pH disminuyo más lentamente en todos los tratamientos. Sin embargo la disminución del pH fue mayor en el tratamiento de

cuajada lavada. Comparando con respecto a la concentración de lactosa, el pH disminuyó a medida que se incrementó la concentración de lactosa residual en los quesos. Al igual que Shakeel et al. (2004) mencionan que el pH del queso está inversamente relacionado con el metabolismo de la lactosa durante la maduración de queso cheddar lo mismo ocurrió en el queso tipo manchego mexicano.



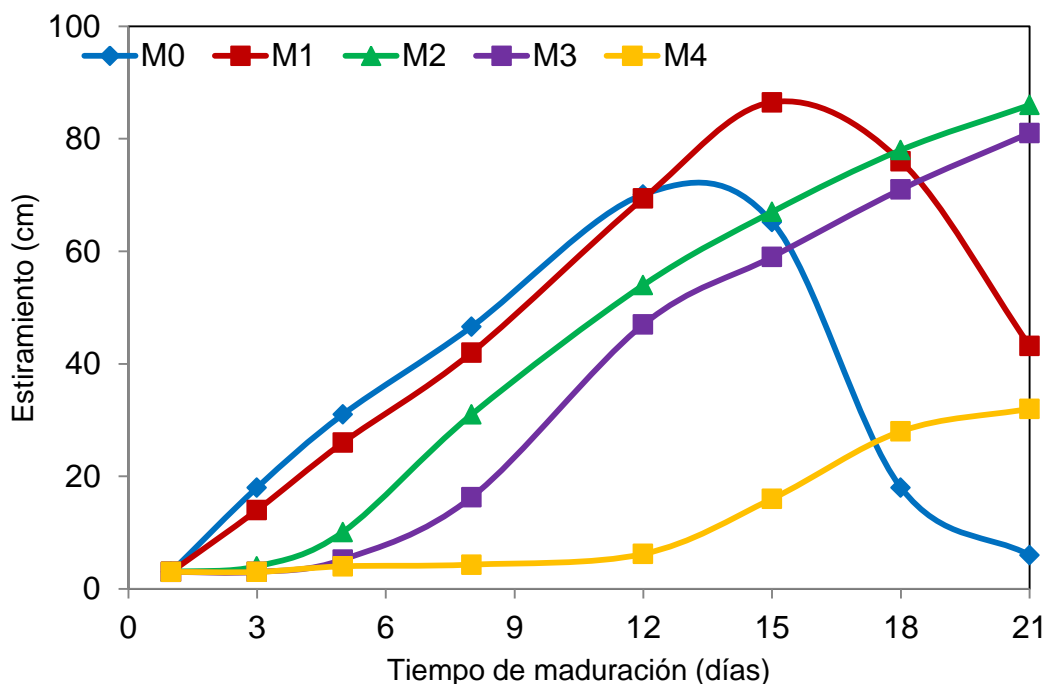
**Figura 16. Variación del pH durante el proceso de maduración de los quesos.**

El pH óptimo donde se alcanzaron las mejores propiedades funcionales fue de 5.3 para todos los tratamientos aunque para el M4 no se alcanzó este pH en los 21 días de maduración, por lo que este queso no obtuvo como madurado ni con buenos resultados en cuanto a sus propiedades funcionales.

## 7.3 Evaluación de propiedades funcionales.

### 7.3.1 Evaluación de la extensibilidad

. En la Figura 17 se presentan los resultados obtenidos sobre la variación del estiramiento en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente concentración de lactosa residual.



**Figura 17. Variación del estiramiento en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual.**

La extensibilidad evaluada en el queso manchego mexicano mostró una diferencia estadística significativa (Anexo 3, Tabla 17) durante cada uno de los días del proceso de maduración de los quesos, tanto para cada uno de los tratamientos, así como entre los tratamientos.

Para el queso tipo manchego mexicano se obtuvo una extensibilidad máxima de 86.5 cm/5g de queso, cuando tuvo un pH 5.3, en los tratamiento M1 y M2, pero los días de máxima extensibilidad variaron entre ambos tratamientos teniendo como

diferencia la concentración residual de cada uno. La extensibilidad obtiene su máximo cuando el queso posee las condiciones óptimas donde se encuentra el suficiente ácido, para la formación del biopolímero de proteína y se requiere de cierta cantidad de ácido para la reacción de polimerización generando un arreglo espacial estable y flexible (Lucey *et al.*, 2003). Aunque si el pH desciende a más de 5.3 origina una hidrólisis de la caseína y destrucción del biopolímero.

Para el tratamiento M0 la extensibilidad máxima fue de 65.2 cm en el día 12 y posteriormente disminuyó a tan solo 6cm, esto se debe a que este tratamiento generó gran acidez y ocurrió un descenso del pH menor a 5.3, lo que provocó hidrólisis de la matriz proteínica y pérdida de la propiedad funcional. En el tratamiento M4 la inhibición de producción de ácido láctico fue tan fuerte que no llegó al pH de 5.3 y la reacción de polimerización quedó incompleta por lo cual la propiedad funcional de extensibilidad fue reducida.

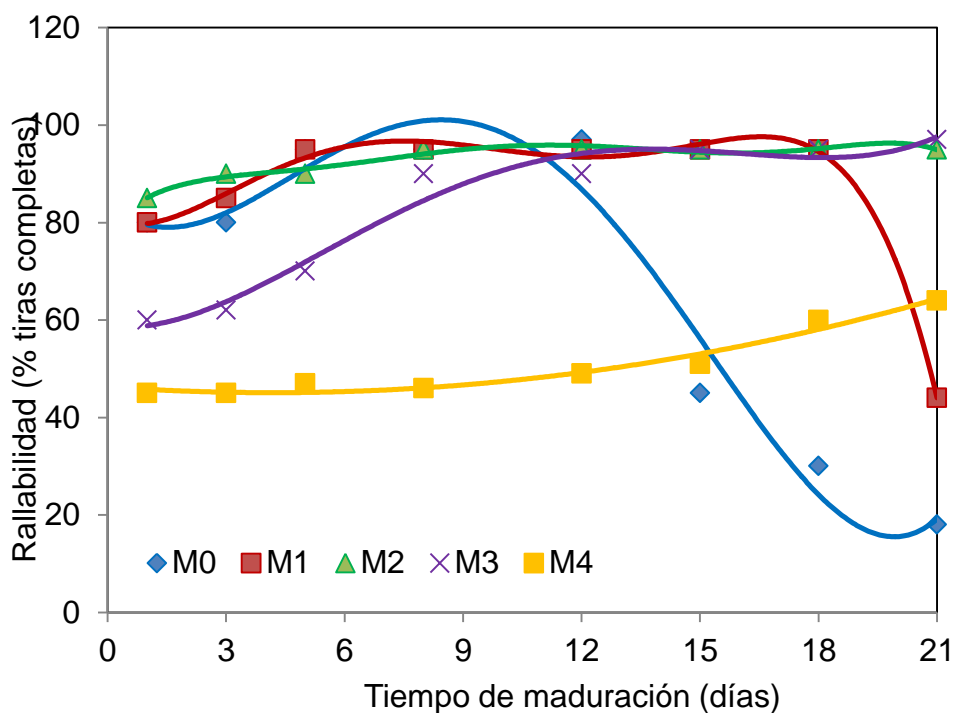
### **7.3.2 Evaluación de la rallabilidad**

En la Figura 18 se presentan los resultados obtenidos de la variación de la rallabilidad de los quesos en función del tiempo de maduración y del contenido de lactosa residual. Se pudo observar que la rallabilidad se incrementó ligeramente a medida que se incrementó el tiempo de maduración en todos los quesos; hasta los doce días. No existió diferencia estadística significativa (Anexo 3, Tabla18).en la rallabilidad de los quesos obtenidos con los tratamientos M0, M1 y M2.

La rallabilidad de los quesos de los tratamientos M1 y M2 continuó siendo similar durante los 21 días de maduración, mientras que la rallabilidad de los quesos del tratamiento M0 disminuyó fuertemente después del día 12.

Una vez transcurridos 21 días de maduración la rallabilidad de los quesos del tratamiento M2 se mantuvo constante, mientras que la de los quesos del tratamiento M1 disminuyó drásticamente para el día 18. Por tanto a mayor concentración de lactosa residual (tratamiento M3) la rallabilidad de los quesos se incrementó

gradualmente a medida que aumenta el tiempo de maduración y alcanza su valor máximo a un tiempo de maduración en 15 días y permaneció constante y similar a la que presentan los quesos del tratamiento M2 Finalmente la rallabilidad de los quesos del tratamiento M4 es muy baja durante todo el periodo de maduración debido a fenómenos de cristalización de lactosa.(Hou *et al.*, 2012).



**Figura 18. Variación de la rallabilidad en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual.**

El cambio en esta propiedad está ligada a la actividad microbiana, la acidez y pH que se genere, ya que estos influyen en la condición y estado de la proteína caseína, si la proteína comienza ser desnaturizada la propiedad funcional se pierde y cuando la producción acidez es muy baja. Aparte la rallabilidad también está en función del proceso de elaboración, en este trabajo el queso se buscó tuviera buena rallabilidad desde del día 1 de elaboración, esta rallabilidad está determinada por las técnicas utilizadas de cuajado, desuerado, cheddarización y prensado. (Pastor, Mellado, Ramírez, & Dolores, 2008).

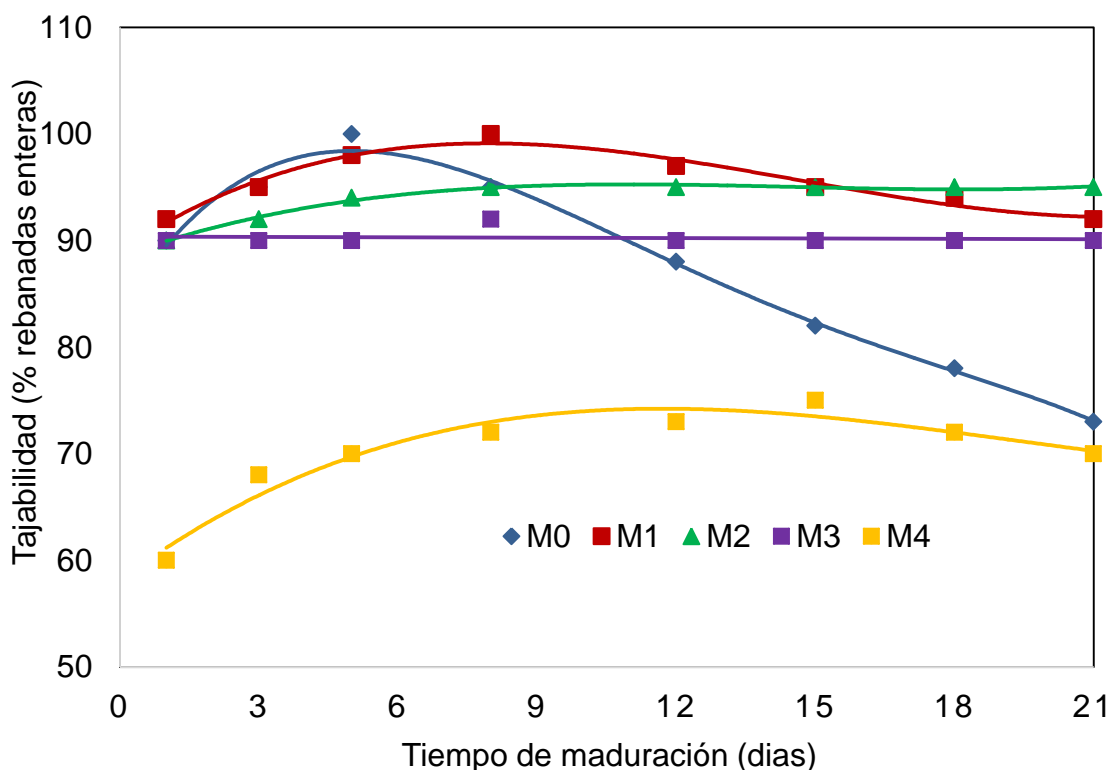


### 7.3.3 Evaluación de la tajabilidad

En la Figura 19 se presentan los resultados sobre la variación de la tajabilidad en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual. Los resultados obtenidos son muy parecidos a los que se obtuvieron sobre la rallabilidad de los quesos (Figura 18).

Los quesos con el nivel de lactosa reducido (tratamiento M0) alcanzaron su máxima tajabilidad a un tiempo de maduración de 5 días, y disminuyó gradualmente a mayores tiempos de maduración, alcanzando una tajabilidad del 73% a los 21 días del proceso de maduración.

La tajabilidad de los quesos con un contenido normal de lactosa (tratamiento M1) fue máxima a un tiempo de maduración de 8 días y disminuyó gradualmente hasta un 92% de tajabilidad a los 21 días de maduración.



**Figura 19. Variación de la tajabilidad en función del tiempo de maduración de los quesos elaborados con diferente contenido de lactosa residual.**

Por su parte, la tajabilidad de los quesos elaborados con un mayor contenido de lactosa residual (tratamientos M2 y M3), prácticamente permaneció constante durante todo el periodo de maduración de los quesos, pues no existió diferencia estadística significativa (Anexo 3, Tabla 19) Finalmente los quesos elaborados con el mayor contenido de lactosa residual (tratamiento M4) desarrollaron muy poca tajabilidad desde el inicio del periodo de maduración, la cual fue del 60% al inicio, alcanzó un máximo de 75% a los 15 días de maduración, y terminó con una tajabilidad del 70% a los 21 días de maduración.

La tajabilidad depende inicialmente del proceso de elaboración de los del queso; si el proceso de cuajado, desuerado, cheddarizado y moldeado se realizaron con este fin (Silva, 2004), En este trabajo se realizó el proceso para tener buen tajo desde el inicio y así fue, el tajo fue bueno para los tratamientos, M1, M2, M3; en estos, el pH y la acidez generados no alcanzaron a dañar la matriz proteica formada del queso y la tajabilidad se mantuvo varios días.

Para el tratamiento M0 el tajo disminuyó desde el día 5 por la alta acidez y pH muy bajo, debido a la actividad microbiana, lo que provocó la desnaturalización de la caseína y reblandecimiento del queso con ello el tajo se empieza a perder.

Para el tratamiento M4 la alta concentración de lactosa residual generó cristales de lactosa que interfieren con el tajo inicial, aparte la conversión de lactosa a ácido láctico es baja y por lo tanto durante todo el periodo de maduración. El tajo para este queso no se consideró aceptable ya que solo cerca del 70% de las rebanadas se obtienen sin defecto (Ramírez-Navas, 2010).

## **7.4 Evaluación microbiológica de los quesos**

Para el queso tipo manchego mexicano se tiene como el cultivo representativo. En este trabajo se evaluó las cuentas de *Lactococcus* en varios días de maduración.

También se determinó la presencia de *Salmonella sp*, (NOM-155-2004) como un indicador de la inocuidad de los quesos, con objeto de identificar posible contaminación cruzada en el proceso ya que en este trabajo se utilizó leche pasteurizada así como condiciones óptimas de higiene.

### **7.4.1 Prueba de *Salmonella sp***

Independientemente de la concentración de lactosa residual y del tiempo de maduración, en ninguno de los quesos elaborados se detectó la presencia del microorganismo *Salmonella sp*, evaluada en 25g de muestra. Este resultado es indicativo de la correcta pasteurización de la leche y también nos habla de la aplicación de las buenas prácticas de higiene y las buenas prácticas de manufactura durante todo el proceso de elaboración de los quesos.

### **7.4.2 Evaluación del crecimiento microbiano.**

Para evaluar el cultivo se realizaron varias pruebas, se cuantifico el inóculo inicial, y las cuentas de *Lactococcus* en muestras de queso en diferentes días de maduración de los diferentes tratamientos. Los resultados se muestran a continuación.

#### **7.4.2.1 Inóculo utilizado**

A partir de 10 unidades del cultivo de *Lactococcus* liofilizado se obtuvo un lactofermento que alcanzó una concentración media inicial de 4202 UFC/g, el cual fue utilizado como cultivo iniciador que se adiciono a la leche previo a elaborar el queso en cada tratamiento. El monitoreo del desarrollo del cultivo láctico se llevó a cabo durante el periodo de maduración de 21 días, mediante la técnica de vaciado en

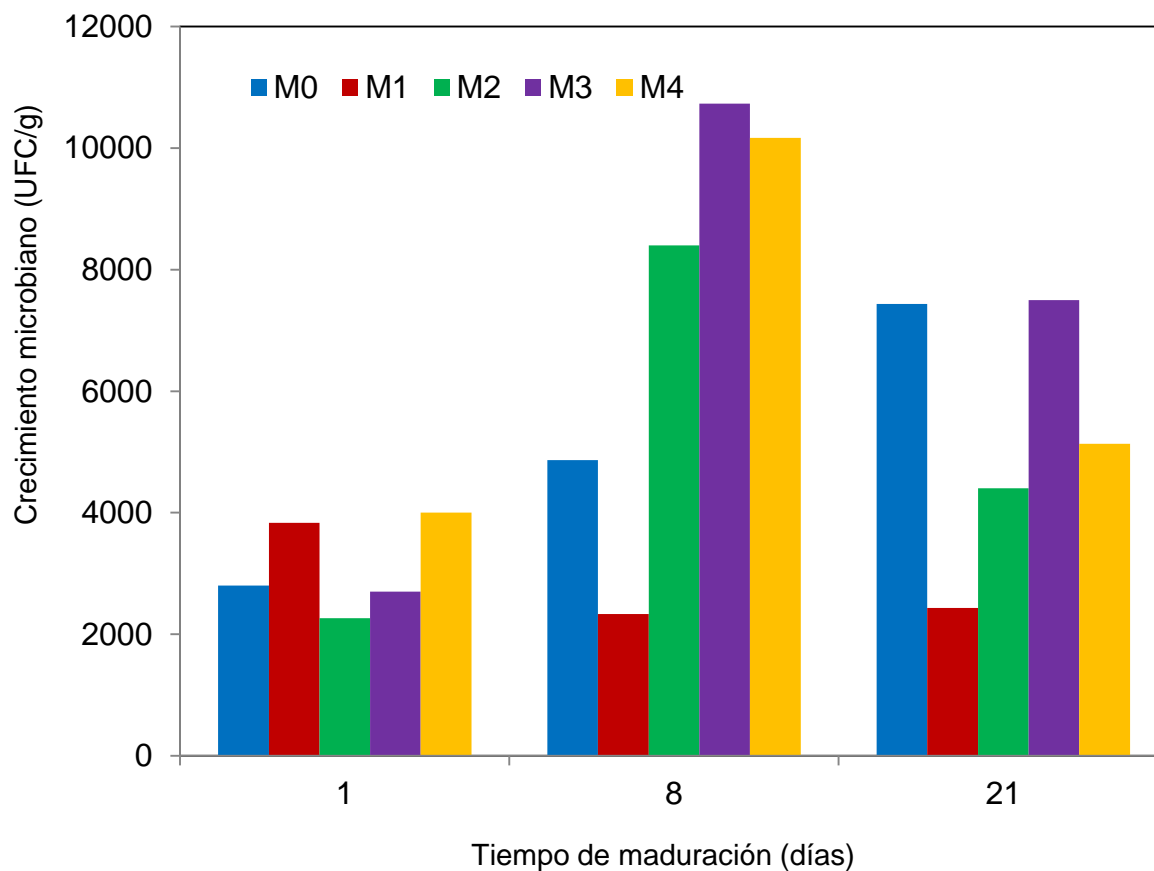
placa en medio MRS. Se observó que en las placas sólo aparecieron colonias típicas de *Lactococcus lactis* y *Lactococcus lactis subespecie cremoris* (Figura 20).



**Figura 20. Colonias del cultivo iniciador desarrolladas en placas con medio MRS y en diferentes días del periodo de maduración de los quesos.**

La cantidad de microorganismos en función del tiempo de maduración y de la concentración lactosa residual en los quesos se presenta en la Figura 21. Los resultados muestran que hubo diferencia significativa entre los tratamientos y en los días evaluados de cada tratamiento (Anexo 3, Tabla 20).

Para la interpretación de este resultado se correlacionaron las propiedades funcionales, la actividad acuosa, la lactosa residual, la acidez y el pH, ya que el proceso de maduración como se observó fue dinámico y las condiciones de crecimiento cambiaron en cada día, así como la respuesta del cultivo. Es por eso necesario comparar en cada tratamiento las diferentes variables y correlacionarlas a los conteos microbianos. La Tabla 8 hace una correlación y comparación de las variables en los tratamientos.



**Figura 21. Crecimiento microbiano en función del tiempo de maduración y la concentración de lactosa residual en los quesos.**

Para el tratamiento M0 se observa que las cuentas microbianas aumentaron durante los primeros días de la maduración, en esos mismos días el pH descendió de 6.5 hasta 4.6, la actividad acuosa tuvo variaciones, pero se incrementó un poco cuando el queso llegó a un pH de 5.3 que provocó una proteólisis y sinéresis en el queso.

En cuanto a las propiedades funcionales del tratamiento M0, la extensibilidad para el día 15, varió drásticamente desde un 65.2cm/5g de queso el día 15 hasta reducirse a tan solo 6cm/5g el día 21, por lo cual prácticamente la propiedad funcional de extensibilidad se perdió en ese tratamiento. El contenido de lactosa disminuyó hasta 1.5% en el día 21, cuando finalizó el tiempo que se destina a la maduración.

En el tratamiento M1 los cambios del día 1 al 21 fueron: el pH descendió desde 6.5 hasta 5.0; el contenido de lactosa descendió de 7.7 hasta 1.1, la extensibilidad se redujo de 86.5cm/5g de queso el día 15, hasta 43cm/5gramos de queso el día 21.

En el tratamiento M2 el pH paso de 6.5 a 5.3 quedando en un pH ideal, el contenido de lactosa disminuyo de 10.2% a 2.5%, este tratamiento finalizo en el óptimo de extensibilidad de 86cm/5g de queso, y un  $a_w$  de 0.849; es decir, en este tratamiento se obtuvo el mejor resultado en calidad al tener los óptimos en propiedades funcionales, parámetros fisicoquímicos e incluso también tuvo una buena calificación sensorial.

En el tratamiento M3 descendió el pH de 6.5 a 5.4, la extensibilidad alcanzada fue de 81 cm, la cantidad de lactosa residual al final fue de 4.7%, este tratamiento también tuvo una buena aceptación en la evaluación sensorial.

En el tratamiento M4 el pH descendió de 6.5 a 5.7, la lactosa residual fue de 5.5% la extensibilidad fue de tan solo 32 cm esto implica que el queso no alcanzo la propiedad funcional requerida y se quedó como un producto no satisfactorio en propiedades funcionales.

Las cuentas microbianas mostraron la existencia de células viables durante los 21 días de maduración en todos los tratamientos por lo que, no se logra observar una tendencia en la cantidad de UFC/g y no es posible predecirla debido a que las condiciones de pH,  $a_w$ , solidos totales, varían cada día durante el proceso. La lactosa no inhibió el crecimiento del cultivo en todos los tratamientos ya que en todos se encontraron células viables hasta el día 21. Aunque si se observó una reducción sobre la producción de ácido láctico en los tratamientos enriquecidos con lactosa, también se observó la tendencia de que a un mayor enriquecimiento de lactosa es mayor la inhibición en la producción de ácido láctico

**Tabla 8. Correlación entre variables en los tratamientos**

Tiempo de maduración	Variables	T r a t a m i e n t o s				
		M0	M1	M2	M3	M4
Día 1	UFC/g	2800	3833	2267	2700	4000
	pH	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
	Aw	0.947	0.957	0.942	0.931	0.954
	Extensibilidad	3	3	3	3	3
	Lactosa	3.1	7.7	10.2	11.2	13
Día 8	UFC/g	4866	2333	8400	10733	10166
	pH	5.3	5.5	5.6	5.7	5.9
	Aw	0.935	0.940	0.910	0.915	0.924
	Extensibilidad	46	42	31	16.3	4
	Lactosa	1.5	2.3	5.4	5.8	10.2
Día 21	UFC/g	7433	2433	4400	7500	5133
	pH	4.6	5.0	5.3	5.4	5.7
	Aw	0.950	0.926	0.849	0.886	0.871
	Extensibilidad	16	43	86	81	32
	Lactosa	1.5	1.1	2.5	4.7	5.5

Vuyst y Vandamme, (1992) encontraron que *Lactococcus lactis* produce muchos de sus metabolitos en la fase de crecimiento, pero que dichos metabolitos no se producen en la fase de latencia, por lo que si la cantidad de lactosa es demasiada provoca una larga fase de latencia teniendo como resultado una disminución en la producción de ácido láctico. Esta situación puede jugar en contra o a favor en la producción de queso tipo manchego mexicano.

Una inhibición parcial y controlada en la producción de ácido láctico en el queso puede utilizarse para ajustar los días de maduración y alcanzar el óptimo en las propiedades funcionales en los quesos.

### 7.5 Evaluación sensorial

En el mercado de alimentos, el libre albedrío o preferencia libre sobre el consumo de un producto se ve influenciado por la percepción del consumidor a través de los

órganos de sus sentidos, generalmente si un alimento no es agradable a los sentidos, no será elegido por el consumidor. (Espinosa-Manfugás, 2008)

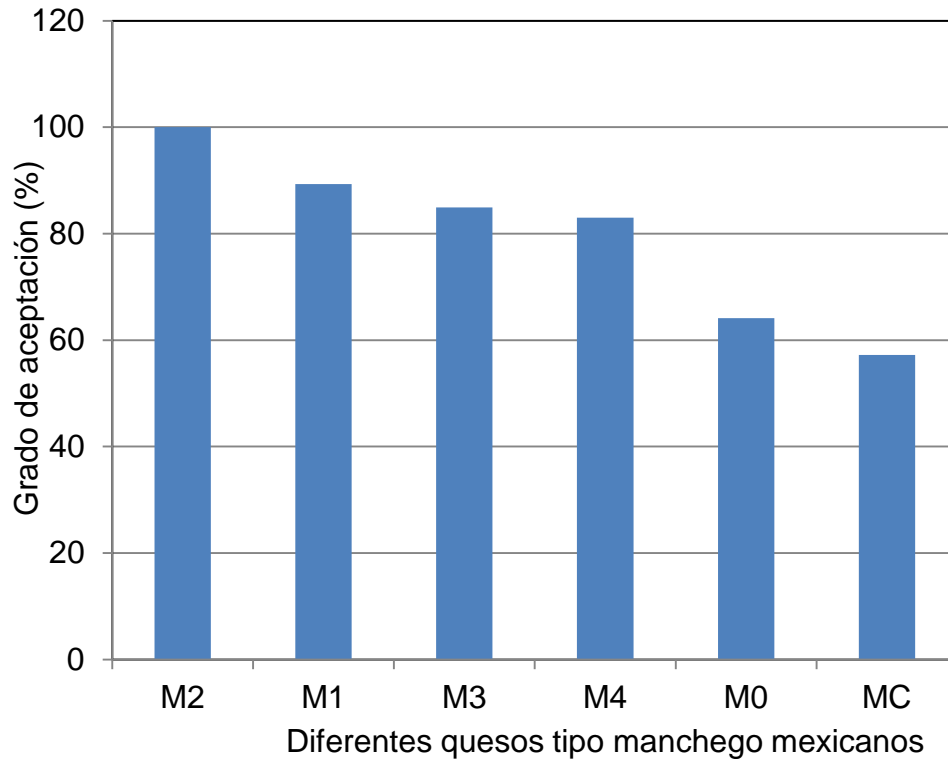
Para el queso tipo manchego mexicano elaborado en este estudio, se realizó una prueba sensorial de preferencia y una prueba de atributos, de acuerdo a la metodología propuesta por Pastor *et al.* (2008) Para llevar a cabo esta evaluación se emplearon consumidores que son calificados como jueces no entrenados. Además de los 5 diferentes tipos de quesos (M0, M1, M2, M3 y M4) elaborados en este estudio, también se incluyó como control comparativo una muestra de queso tipo manchego mexicano comercial de la marca Caperucita, la cual fue adquirida en el Mercado Soriana de Sahuayo, Michoacán (MC). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 22.

#### **7.6.1 Evaluación de preferencia**

Se practicó el análisis estadístico de chi cuadrado que estableció que no existió diferencia significativa entre los tratamientos en cuanto a la preferencia, por lo tanto las adiciones de lactosa no afectan la preferencia del consumidor. El queso con mayor preferencia fue M2, le siguieron en preferencia los quesos M1, M3, M4, y M0

Pero al comparar los tratamientos con la muestra comercial (MC) que si hay diferencia significativa, se considera que el resultado está influenciado por la acidez alcanzada en el producto comercial. Se realizó el cálculo del DMS (Anexo 3 tabla 22). Este mostró que la mayor diferencia ocurre en el tratamiento M2 y la muestra comercial MC.





**Figura 22. Preferencia del consumidor en los quesos elaborados y una muestra comercial**

### 7.6.2 Evaluación de atributos

El análisis de atributos muestra el perfil de sabor y aromas que perciben los consumidores y su intensidad en una escala donde 10 es muy bueno y 0 es muy malo. Los resultados obtenidos en perfil de atributos para los tratamientos y el queso manchego comercial (Figura 23), muestran que el queso comercial posee un perfil diferente a los quesos obtenidos en este trabajo.

Por otro lado los quesos obtenidos en este trabajo se observó que poseen un perfil similar entre ellos y que las diferencias entre tratamientos son pequeñas, con esta información se puede aseverar que la lactosa ejerce un mínimo cambio en el perfil de sabor, pero si impacta fuertemente en la cinética de producción de acidez, propiedades funcionales y en el desarrollo bacteriano.

Por lo tanto el análisis sensorial mostró que el queso obtenido con leche del municipio de Marcos Castellanos, y elaborado con el procedimiento de Silva. (2004) alcanza y supera los estándares de calidad sensoriales, ya que es del agrado del consumidor común, lo cual respalda la factibilidad de producir quesos madurados en la región de la Ciénega de Chapala con calidad en todos los aspectos.

### Perfil de atributos

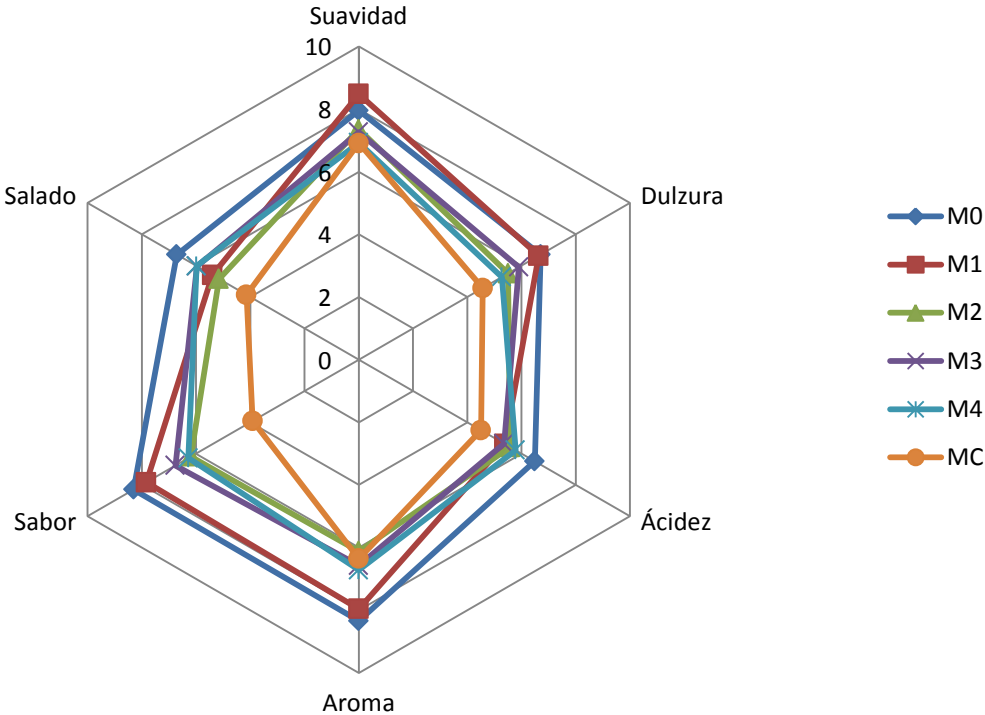


Figura 23 Perfil de sabores y aroma de los quesos tipo manchego mexicano.

## 8. CONCLUSIONES

La concentración residual de lactosa influye, en el desarrollo de las características organolépticas y las propiedades funcionales en el queso tipo manchego mexicano.

Ajustar la concentración de lactosa en la leche, permite controlar el proceso de maduración del queso tipo manchego mexicano de forma, que se facilita la programación de su manufactura, de acuerdo a los tiempos de maduración esperados y la entrega del producto terminado.

La lactosa es un ingrediente que se puede utilizar en la mejora de la producción del queso tipo manchego mexicano, ya que afecta mínimamente las características sensoriales del producto obtenido o incluso mejora el perfil de sabor y la aceptación del consumidor.

Resulta conveniente modificar la concentración de lactosa en la leche utilizada en la elaboración de los quesos para un mejor control de calidad. Por ejemplo; elevar la concentración residual de lactosa en el queso, permite reducir la cinética de acidificación, lo que con lleva a un mayor control sobre el tiempo del proceso de maduración de los quesos y evita el reblandecimiento el queso.

Una baja concentración de lactosa (menor a 3.1%) ocasiona que los microorganismos del cultivo iniciador utilicen además de la lactosa a las proteínas como fuente de carbono, provocando con ello una proteólisis y un aumento de  $a_w$ , seguido de una acidificación intensa que ocasiona el defecto del reblandecimiento de los quesos. Por el contrario un aumento (mayor a 3.1%) de lactosa residual limita la hidrólisis de la fracción proteica.

Concentraciones altas de lactosa (mayores a 125g lactosa/litro de leche) en la leche con la que se elabora el queso tipo manchego mexicano, pueden resultar en grandes defectos de calidad, ya que si la concentración de lactosa residual del queso es tan

alta como 13%, ocasiona una inhibición en la producción de ácido láctico tan severa, que el tiempo de maduración ordinario de 21 días no es suficiente para alcanzar la acidez requerida y el producto final es un queso inmaduro que no tiene las características organolépticas ni las propiedades funcionales que demanda el mercado.

La pasteurización de la leche es un proceso necesario para el control de calidad y la obtención de resultados reproducibles, debido a que solamente permite el desarrollo y crecimiento de las bacterias que integran el cultivo iniciador, manteniendo de esta forma la inocuidad del producto y la estandarización del mismo.

La producción de queso tipo manchego mexicano es una opción para los productores de queso de la región Ciénega de Chapala, en donde se tienen excedentes de leche en algunos meses del año. Un factor favorable para la comercialización de este tipo de queso, es que ya se encuentra en el mercado, lo cual facilita su introducción a las grandes ciudades y no compite con los quesos que ya se elaboran en la región, como lo es el queso Cotija, en sus variantes fresco, seco y semiseco.

Este trabajo puede ser una guía de análisis y conocimiento para la elaboración y control de calidad de este tipo de queso, esperando motive a emprendedores de la región, para que se inicie la producción del queso tipo manchego mexicano y de esta forma, constituya un detonante para el desarrollo económico para las comunidades de la región y del país.

## 9. REFERENCIAS

- .Amiot, J., Bergeron, J., Blais, A., Bonin, G., Boudreau, A., Boulet, M., y Cloutier, R. (1991). *Ciencia y tecnología de la leche: principios y aplicaciones*. Editorial Acribia.
- Abdel-rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances*. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Ainsworth, S., Stockdale, S., Bottacini, F., Mahony, J., & van Sinderen, D. (2014). The *Lactococcus lactis* plasmidome: Much learnt, yet still lots to discover. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(5), 1066–1088. <http://doi.org/10.1111/1574-6976.12074>
- Alais, C., y Godina, A. L. (1985). *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera*. Editorial Reverté. España.
- Álvarez-Fuentes, G., Herrera-Haro, J. G., Alonso-Bastida, G., & Barreras-Serrano, A. (2012). Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. *Archivos de medicina veterinaria*, 44(3), 237-242.
- AOAC (1990). Métodos Oficiales de Análisis. *Association of Official Analytical Chemist*. Ed 15. Arlington, Virginia., USA. Page 830-855.
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food science and technology*. New York, marcel dekker-, 139, 1-66.
- Badui Dergal, S., Valdés Martínez, S. E., y Cejudo Gómez, H. (1997). *Química de los alimentos*. Editorial Pearson

- Bähler, B., Ruf, T., Samudrala, R., Schenkel, P., & Hinrichs, J. (2015). Systematic approach to study temperature and time effects on yield of pasta filata cheese. *International Journal of Dairy Technology*. <http://doi.org/10.1111/1471-0307.12248>
- Bernal, L., Rojas, M., Vazquez, C., Angelica, E., Estrada, J., & Castelan, O. (2007). Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche cruda producida en sistemas campesinos en dos regiones del Estado de México. *Veterinaria Mexico*. 38(4), 395–407.
- Bertola, N. C., Califano, A. N., Bevilacqua, A. E., & Zaritzky, N. E. (1996). Effect of Freezing Conditions on Functional Properties of Low Moisture Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, 79(2), 185–190. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76349-X](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76349-X)
- Bunkova, L., Bunka, F., Mantlova, G., Cablova, A., Sedlacek, I., Svec, P., & Kracmar, S. (2010). The effect of ripening and storage conditions on the distribution of tyramine, putrescine and cadaverine in Edam-cheese. *Food Microbiology*, 27(7), 880–888. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2010.04.014>
- Byland, G., López-Gómez, A., y Madrid, V. (2003). *Manual de industrias lácteas*. Editorial Mundi-Prensa/Tetra Pak.
- Cervantes Escoto, F., Villegas de Gante, A., Cesín Vargas, A., y Espinosa Ortega, A. (2006). *Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar*. III Congreso Internacional de La Red SIAL Alimentación Y Territorios.
- Childs, J. L., Daubert, C. R., Stefanski, L., & Foegeding, E. A. (2007). Factors regulating cheese shreddability. *Journal of dairy science*, 90(5), 2163-2174.
- Crespo, J., Réquier-desjardins, D., & Vicente, J. (2014). Why can collective action fail in Local Agri-food Systems ? A social network analysis of cheese producers in

- Aculco, Mexico. *Journal of Food Policy*, 46, 165–177.  
<http://doi.org/10.1016/j.foodpol.2014.03.011>
- Cunningham, A. I. (2003) *Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de Productos Lácteos. Consultoría HACCP Saltillo. México.*
- De Ruyter, P. G., Kuipers, O. P., & De Vos, W. M. (1996). Controlled gene expression systems for *Lactococcus lactis* with the food-grade inducer nisin. *Applied and environmental microbiology*, 62(10), 3662-3667.
- De Vuyst, L., & Vandamme, E. J. (1992). Influence of the carbon source on nisin production in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* batch fermentations. *Microbiology, Journal of General Microbiology* . 138(3), 571-578.
- Delgado, F. J., González-Crespo, J., Cava, R., & Ramírez, R. (2011). Proteolysis, texture and colour of a raw goat milk cheese throughout the maturation. *European Food Research and Technology*, 233(3), 483–488.  
<http://doi.org/10.1007/s00217-011-1536-3>
- Ercan, O., Wels, M., Smid, E. J., & Kleerebezem, M. (2015). Molecular and metabolic adaptations of *Lactococcus lactis* at near-zero growth rates. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(1), 320–331.  
<http://doi.org/10.1128/AEM.02484-14>
- Erich, S., Kuschel, B., Schwarz, T., Ewert, J., Böhmer, N., Niehaus, F. & Fischer, L. (2015). Novel high-performance metagenome  $\beta$ -galactosidases for lactose hydrolysis in the dairy industry. *Journal of Biotechnology*, 210, 27–37.  
<http://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.411>
- Espinosa, J. (2007). *Evaluación sensorial de los alimentos*. Editorial Universitaria. La Habana, 18-30.
- Evers J.M., Wightman L.M., Crawford R.A., Contarini G., Coors D.C., Farrington J., & Nicolas M. (2000). Properties of Milk. *New Zealand Dairy Research Institute*. Palmerston North, New Zealand.

- Fallico, V., McAuliffe, O., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P. (2011). Plasmids of raw milk cheese isolate *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* biovar *diacetylactis* DPC3901 suggest a plant-based origin for the strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), 6451–6462. <http://doi.org/10.1128/AEM.00661-11>
- Fenelon, M. A., & Guinee, T. P. (2000). Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents, *International Dairy Journal* 10 (2000) 151}158 10.
- Fernández E.E. (2000). *Microbiología e Inocuidad de Alimentos*. Editorial. Universidad Autónoma de Querétaro. México.
- Folkertsma, B., Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (1996). Accelerated ripening of cheddar cheese at elevated temperatures. *International Dairy Journal*, 6(11–12), 1117–1134. [http://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00066-6](http://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00066-6)
- García Martínez, E. M., Fernández Segovia, I., y Fuentes López, A. (2013). *Determinación del contenido en grasa de la leche por el método Gerber*. *Universitat Politècnica de València*. Editor Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
- Gori, K., Ryssel, M., Arneborg, N., & Jespersen, L. (2013). Isolation and Identification of the Microbiota of Danish Farmhouse and Industrially Produced Surface-Ripened Cheeses. *Microbial Ecology*, 65(3), 602–615. <http://doi.org/10.1007/s00248-012-0138-3>
- Grass - Ramírez, J. F., y Cesín-Vargas, A. (2014). Situación actual y retrospectiva de los quesos genuinos de Chiautla de Tapia, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 11(2), 201-221.11, 201–221.
- Guimarães, P. M., Teixeira, J. A., & Domínguez, L. (2010). Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. *Biotechnology Advances*, 28(3): 375-384. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.002>



- Guo, M. R., & Kindstedt, P. S. (1995). Age-Related Changes in the Water Phase of Mozzarella Cheese 1. *Journal of Dairy Science*, 78(10), 2099–2107. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76836-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76836-9)
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*, 16, 1–16. <http://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>
- Herrera, C. F., Montañez-soto, J. L., González, J. V., & Bernardino-, A. (2014). Effect of Good Hygiene Practices Implementation in the Milk Sanitary Quality Used in the Cotija Cheese Elaboration. *Advances in BioResearch* (December), 39–45. <http://doi.org/10.15515/abr.0976-4585.5.4.3945>
- Hervás Serra Ana (2012). *El Mercado del queso en México*. Editor: Notas Sectoriales. Oficina económica y comercial de la embajada de España en México.
- Hickey, D. K., Guinee, T. P., Hou, J., & Wilkinson, M. G. (2013). Effects of variation in cheese composition and maturation on water activity in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 30(1), 53–58. <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.11.006>
- Hou, J., Hannon, J. A., Mcsweeney, P. L. H., Beresford, T. P., & Guinee, T. P. (2014). Effect of curd washing on cheese proteolysis, texture, volatile compounds, and sensory grading in full fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 34(2), 190–198. <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.08.008>
- Hou, J., Hannon, J. A., McSweeney, P. L. H., Beresford, T. P., & Guinee, T. P. (2012). Effect of curd washing on composition, lactose metabolism, pH, and the growth of non-starter lactic acid bacteria in full-fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 25 (1), 21–28. <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.12.015>

- Johnson, M. (2000). The Melt and Stretch of Cheese. Wisconsin Center for Dairy Research. *Dairy Pipeline*, 12(1).
- Kilcawley, K. N., Nongonierma, A. B., Hannon, J. A., Doolan, I. A., & Wilkinson, M. G. (2012). Evaluation of commercial enzyme systems to accelerate Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 26(1), 50–57. <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.03.015>
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., & Reuter, G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 41(2): 103-125.
- Leitner, G., Krifucks, O., Merin, U., Lavi, Y., & Silanikove, N. (2006). Interactions between bacteria type, proteolysis of casein and physico-chemical properties of bovine milk. *International Dairy Journal*, 16, 648–654. <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.020>
- Linares, D. M., Kok, J., & Poolman, B. (2010). Genome sequences of *Lactococcus lactis* MG1363 and NZ9000 and comparative physiological studies. *Journal of Bacteriology*, 192(21), 5806–5812. <http://doi.org/10.1128/JB.00533-10>
- Litopoulou\_Zanetaki, E., Tzanetakis, N., & Vafapoulou-Mastrojiannaki, A. (1993). Effect of the type of lactic starter on microbiological chemical and sensory characteristics of Feta cheese. *Food Microbiology*, 10, 31–41.
- Lucey, J. A., Johnson, M. E., & Horne, D. S. (2003). Invited Review : Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2725–2743. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73869-7](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73869-7)
- Luo, J., Pan, T., Guo, H. Y., & Ren, F. Z. (2013). Effect of calcium in brine on salt diffusion and water distribution of Mozzarella cheese during brining. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 824–831. <http://doi.org/10.3168/jds.2012-5888>
- Martínez Loperena, R., Ayala Burgos, A., Solorio Sánchez, J., & Castelán Ortega, O. (2015). Efecto de un Sistema Silvopastoril Intensivo sobre el Perfil de Textura

y Composición Físico-Química del Queso Artesanal Tepeque de México. *Revista Científica*, 25. FCV-LUZ, XXV, 153–158

Mazerolles, G. M., Devaux, M., Duboz, G., Duployer, M.-H., Riou, N. M., & Dufourd, É. (2001). Infrared and fluorescence spectroscopy for monitoring protein structure and interaction changes during cheese ripening. *Le Lait*. <http://doi.org/DOI: 10.1051/lait: 2001148>

McMahon, D. J., Oberg, C. J., Drake, M. A., Farkye, N., Moyes, L. V, Arnold, M. R., & Broadbent, J. R. (2014). Effect of sodium, potassium, magnesium, and calcium salt cations on pH, proteolysis, organic acids, and microbial populations during storage of full-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(8), 4780–98. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8071>

McMahon, D. J., Paulson, B., & Oberg, C. J. (2005). Influence of Calcium, pH, and Moisture on Protein Matrix Structure and Functionality in Direct-Acidified Nonfat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3754–3763. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 \(05\)73061-7](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (05)73061-7)

McSweeney, P. L. H., & Fox, P. F. (1997). Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening to cite this version. *Le lait*, 77(1), 41-76

Menšíková, A., Georgová, N., Flasarová, R., Pachlová, V., & Bun, L. (2016). Biogenic amine production by *Lactococcus lactis* subsp . *cremoris* strains in the model system of Dutch-type cheese, *Food chemistry*, 194, 68-75. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.069>

Ministry for Primary Industries. (2013). *An Assessment of the Effects of Pasteurisation on Claimed Nutrition and Health Benefits of Raw Milk* .Editor: New Zealand Government.

Mistry, V. V, & Kasperson, K. M. (1998). Influence of Salt on the Quality of Reduced Fat Cheddar Cheese 1. *Journal of Dairy Science*, 81(5), 1214–1221. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 \(98\)75681-4](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302 (98)75681-4)

- Ndoye, B., Rasolofo, E. A., LaPointe, G., & Roy, D. (2011). A review of the molecular approaches to investigate the diversity and activity of cheese microbiota. *Dairy Science and Technology*, 91(5), 495–524. <http://doi.org/10.1007/s13594-011-0031-8>
- NMX-F-094-1984. Alimentos lácteos. Determinación de cenizas en quesos. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-100-1984. Alimentos Lácteos. Determinación de grasa butírica en quesos. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-360-S-1981. Alimentos para humanos. Determinación de cloruros como cloruro de sodio. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-420-1982. Productos alimenticios para uso humano. Determinación de acidez en leche fluida. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-462-1984. Alimentos lácteos. Queso tipo manchego. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-509-1988. Alimentos. Determinación de lactosa en leche reconstituida. Método de Lane y Eynon. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas
- NOM 114-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos.
- NOM-155-SCFI-2012, Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- Olmedo, R. H., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2013). Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 409–417. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.04.007>

- Pachlová, V., Buňka, F., Flasarová, R., Válková, P., & Buňková, L. (2012). The effect of elevated temperature on ripening of Dutch type cheese. *Food Chemistry*, 132(4), 1846–1854. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.017>
- Pastor, L.F.J., Mellado, B.M., Ramirez, A.A. y Dolores R.E. (2008). Evaluación sensorial de queso de leche de cabra tipo Boursin sabor natural y ceniza. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 1695-7504 Volumen IX Número 8
- Pedrero, D.L.; Pangborn, R.M. 1997. *Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos Analíticos*. Ed. Alhambra Mexicana, México, D.F.
- Pillidge, C. J., Rallabhandi, P. S. V. S., Tong, X. Z., Gopal, P. K., Farley, P. C., & Sullivan, P. A. (2002). Autolysis of *Lactococcus lactis*. *International Dairy Journal*, 12(2–3), 133–140. [http://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00135-2](http://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00135-2)
- Pisano, M. B., Fadda, M. E., Melis, R., Ciusa, M. L., Viale, S., & Deplano, M. (2015). Molecular identification of bacteriocins produced by *Lactococcus lactis* dairy strains and their technological and genotypic characterization, *Food Control*, 51, 1–8. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.005>
- Pomeón Thomas. (2007). *El queso Cotija, México. Consultoría realizada para la FAO y el IICA en el marco del estudio conjunto sobre los productos de calidad vinculada al origen*. Editor: CIESTAAM, Universidad Autónoma de Chapingo.
- Pritchard, S. R., Phillips, M., & Kailasapathy, K. (2010). Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food research international*, 43(5): 1545-1548.
- Promexico. (Organización gubernamental para la promoción de inversión extranjera). <https://www.promexico.gob.mx/>. Accesado 20 Mayo 2016
- PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012 Sistema producto leche – alimento – lácteo – leche cruda de vaca especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba. Editor COFOCALEC

- Quigley, L, O'Sullivan, O, Stanton, C, Beresford, T. P., Ross, R. P, Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698. <http://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
- Ramírez Navas Juan Sebastián. (2010). Propiedades funcionales de los quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana* N° 64: 40-46.
- Rémi, S., Pajonk, A., & Julien, A. (2004). Modelling of French Emmental cheese water activity during salting and ripening periods. *Journal of Food Engineering*, 63, 163–170. [http://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00295-4](http://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00295-4)
- Robinson, R. K (2005). Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products. Editor: John Wiley y Sons.
- Sagardía, I., Iloro, I., Elortza, F., & Bald, C. (2013). Quantitative structure–activity relationship based screening of bioactive peptides identified in ripened cheese. *International Dairy Journal*, 33(2): 184-190.
- SAGARPA. (2015). Boletín de Leche. SIA. Accesado 20 de Junio 2016 [http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/B\\_de\\_Leche\\_abril-junio\\_2016%20.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/B_de_Leche_abril-junio_2016%20.pdf)
- Schlimme E. (2002). *La leche y sus componentes. Propiedades químicas y físicas*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 1-15, 33-36, 77-81, 87-94.
- Scott R. (1991). *Fabricación de quesos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp.1-37
- Secretaria de Economía (2012). Análisis del sector lácteo en México. Dirección General de Industrias Básicas. Accesado 20 Julio 2016. [http://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/informacionSectorial/analisis\\_sector\\_lacteo.pdf](http://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf)
- Serhan, M., Linder, M., Hosri, C., & Fanni, J. (2010). Changes in proteolysis and volatile fraction during ripening of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's

- milk cheese. *Small Ruminant Research*, 90(1–3), 75–82.  
<http://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.01.008>
- Shakeel-Ur, R., Waldron, D., & Fox, P. F. (2004). Effect of modifying lactose concentration in cheese curd on proteolysis and in quality of Cheddar cheese, *International Dairy Journal*, 14(7), 591–597.  
<http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.11.008>
- Sihufe, G. A., Zorrilla, S. E., Perotti, M. C., Wolf, I. V., Zalazar, C. A., Sabbag, N. G., Rubiolo, A. C. (2010). Acceleration of cheese ripening at elevated temperature. An estimation of the optimal ripening time of a traditional Argentinean hard cheese. *Food Chemistry*, 119(1), 101–107.  
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.001>
- Silva Silva Guillermo. (2004). *Manual de fabricación de quesos*. Editor: Centro de estudios de la leche A.C. Tulancingo. México.
- Smit, G., Smit, B. A., & Engels, W. J. M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3 SPEC. ISS.), 591–610.  
<https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.002>
- Sousa, M., Mcsweeney, P. L. H., & Ardo, Y. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11, 327–345.
- Steele, J., Broadbent, J., & Kok, J. (2013). Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), 135–141. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.12.001>
- Utset, E. Z. (2007). *Evaluación objetiva de la calidad sensorial de alimentos procesados*. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, MINAL, Cuba, 2007. Editorial Universitaria.

Veisseyre R. (1998). *Lactología Técnica*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Vélez, M. A. (2013). Influencia de la actividad de las enzimas nativas de la leche lipoproteína lipasa y plasmina en la lipólisis y la proteólisis de quesos duros de pasta cocida. Editor: INLAIN Facultad de Ingeniería Química Universidad Nacional Del Litoral, 271–273.



# ANEXO 1.

## Prueba de atributos.

### DATOS PERSONALES

Edad \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_. Que tan frecuente consume queso \_\_\_\_\_

Le gustan los quesos fundibles \_\_\_\_\_. Mencione 3 productos donde consuma quesos fundibles \_\_\_\_\_

Suele consumir queso tipo manchego \_\_\_\_\_

Saludos. Esta es una evaluación sensorial en donde nos interesa tu opinión sobre el producto "queso tipo manchego mexicano". Para ello te pedimos utilices tus sentidos en cada una de las pruebas y nos des tu sincera opinión.

Prueba 1. A continuación se te darán 6 muestras de queso, para cada uno de ellas indica en la línea hacia donde consideras que se encuentra cada uno de los atributos.

	204		376	
Deficiente ↓	.....	Buena ↓	Deficiente ↓	Buena ↓
Suavidad  -----		Suavidad  -----		Suavidad  -----
Dulzura  -----		Dulzura  -----		Dulzura  -----
Ácidoz  -----		Ácidoz  -----		Ácidoz  -----
Aroma  -----		Aroma  -----		Aroma  -----
Sabor  -----		Sabor  -----		Sabor  -----
Salado  -----		Salado  -----		Salado  -----

## ANEXO 2.

### Pruebas de preferencia:

A continuación se le darán muestras de queso tipo manchego fundido. Evalúe cual posee las mejores características de un queso fundido según su opinión y ordene del 6 al 1. Donde 6 es el mejor y 1 es el menor.

420 \_\_\_\_\_ 515 \_\_\_\_\_ 128 \_\_\_\_\_ 763 \_\_\_\_\_ 045 \_\_\_\_\_

876 \_\_\_\_\_

3.- Desea realizar alguna observación

---

---

---

**GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN**

ATTE. QA Paul Reyes Chávez

### ANEXO 3.

Tabla 9. Análisis estadístico de la variación en el contenido de humedad durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	a	b	b	b	b	a	a	a
M2	b	c	c	c	b	a	a	a
M3	b	d	d	d	c	a	a	b
M4	c	e	e	e	d	a	a	b

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 10. Análisis estadístico de la variación de la actividad de agua durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)		
	1	8	18
M0	a	a	a
M1	b	a	b
M2	b	b	c
M3	c	c	d
M4	d	d	e

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 11. Análisis estadístico de la variación del contenido de cenizas durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	a	b	ab	a	a	a	a	ab
M2	a	b	b	ab	a	b	a	b
M3	b	c	b	b	b	b	b	c
M4	c	d	c	c	c	c	b	d

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 12. Análisis estadístico de la variación del contenido de cloruro de sodio durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	b	a	b	b	b	b	b	b
M2	b	b	c	c	c	c	c	c
M3	c	c	d	d	d	d	d	d
M4	d	d	e	e	e	e	e	e

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 13. Análisis estadístico de la variación del contenido de proteína durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	ab	ab	ab	a	a	a	a	a
M2	bc	ab	ab	a	a	a	a	a
M3	bc	b	b	a	a	a	a	a
M4	c	b	b	b	a	a	a	a

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 14. Análisis estadístico de la variación del contenido de grasa durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	b	a	b	a	b	a	a	a
M2	b	a	b	a	b	a	a	a
M3	c	a	c	a	c	a	a	a
M4	c	b	d	b	d	b	b	b

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 15. Análisis estadístico de la variación del contenido de lactosa durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	b	b	b	b	b	b	b	a
M2	c	c	c	c	c	c	c	c
M3	d	d	d	c	d	d	d	d
M4	e	e	e	d	d	d	d	d

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 16. Análisis estadístico de la variación del contenido de ácido láctico durante el proceso de maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	b	b	b	b	b	b	b	a
M2	c	c	c	c	c	c	c	c
M3	d	d	c	d	d	d	d	d
M4	e	e	d	e	e	e	e	e

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 17. Análisis estadístico de la variación del pH durante la maduración de los quesos.

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	b	b	b	b	b	b	b	a
M2	c	c	c	c	c	c	c	c
M3	d	d	c	d	d	d	d	d
M4	e	e	d	e	e	e	e	e

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 18. Análisis estadístico de la variación de la extensibilidad durante el proceso de maduración de los quesos

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	a	a	b	b	a	b	a	b
M2	a	c	c	c	b	b	b	c
M3	a	c	d	d	c	c	c	d
M4	a	c	d	e	d	d	d	e

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 19. Análisis estadístico de la variación de la rallabilidad durante el proceso de maduración de los quesos

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	a	b	a	a	a	a	a	a
M2	a	b	a	a	a	a	a	b
M3	b	c	b	a	a	b	b	c
M4	c	d	b	b	b	c	c	d

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 20. Análisis estadístico de la variación de la tajabilidad durante el proceso de maduración de los quesos

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)							
	1	3	5	8	12	15	18	21
M0	a	a	a	a	a	a	a	a
M1	a	b	ab	a	a	a	a	ab
M2	a	b	b	ab	a	b	a	b
M3	b	c	b	b	b	b	b	c
M4	c	d	c	c	c	c	b	d

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 21. Análisis estadístico del crecimiento del cultivo iniciador durante el proceso de maduración de los quesos

Tratamiento	Tiempo de maduración (días)		
	1	8	18
M0	a	a	a
M1	a	b	ab
M2	a	b	b
M3	b	c	b
M4	c	d	c

\*Valores con la misma letra por columna son estadísticamente iguales. LSD  $p \geq 0.05$

Tabla 22. Análisis estadístico de ordenamiento de preferencia. (DMS).

Comparación de tratamientos	Diferencia ( $R_{i_1} - R_{i_2}$ )	$p \geq 0.05$
M2/M1	11	nds
M2/M3	16	nds
M2/M4	21	nds
M2/M0	33	nds
M2/M5	48	shd
M1/M3	5	nhd
M1/M4	10	nhd
M1/M0	22	nhd
M1/M5	37	nhd
M3/M4	5	nhd
M3/M0	5	nhd
M3/M5	32	nhd
M4/M0	8	nhd
M4/M5	27	nhd
M0/M5	15	nhd

\*nds no hay diferencia significativa. \*\*Shd si hay diferencia significativa

