



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**EFFECTO DEL LAVADO DE LA CUAJADA SOBRE LAS
PROPIEDADES TEXTURALES Y REOLÓGICAS DE UN
QUESO DE PASTA SEMIDURA
(QUESO TIPO MANCHEGO MEXICANO)**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS:
EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

P R E S E N T A:

FRANCISCO ESCORZA PÉREZ



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Julio, 2008.

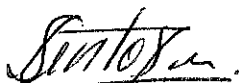
Chapingo, Estado de México.

**Efecto del lavado de la cuajada sobre las propiedades de textura y reológicas de un queso de pasta semidura
(Queso tipo manchego mexicano)**

Tesis realizada por Francisco Escorza Pérez bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

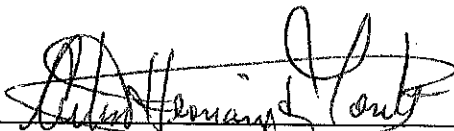
**MAESTRO EN CIENCIAS EN:
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR:



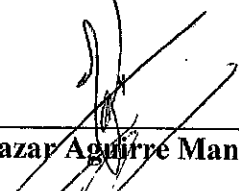
M. en C. Armando Santos Moreno

ASESOR:



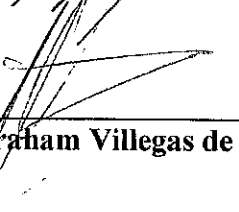
Dr. Arturo Hernandez Montes

ASESOR:



M. en C. Eleazar Aguirre Mandujano

ASESOR:



M. en C. Abraham Villegas de Gante

AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT, por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por brindarme su hospitalidad y permitir mi superación académica dentro de sus instalaciones.

A la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, por su plan de estudios orientado a la Tecnología de la leche, que incremento mi conocimiento y amor por ésta importante rama de la agroindustria.

Al Laboratorio de Tecnología de la leche del Departamento de Industrias Alimentarias; Unidad de Tecnología Lechera; Laboratorio de Tecnología de Alimentos de Preparatoria Agrícola; y Laboratorio de Nutrición de Rumiantes del Departamento de Zootecnia, por el inmensurable apoyo brindado para la realización de la fase experimental de la presente investigación.

Al M. en C. Armando Santos Moreno, por su acertada dirección, valiosa ayuda y apoyo, por siempre estar de mi lado con su sabio consejo para la consecución de éste trabajo.

Al Dr. Arturo Hernández Montes, por su asesoría, apoyo y disponibilidad constante para la finalización de éste trabajo.

Al M. en C. Eleazar Aguirre Mandujano, por su apoyo y asesoría, y sobre todo por exigirme cada vez más con el fin de mejorar éste trabajo.

Al M. en C. Abraham Villegas de Gante, por su asesoría y apoyo para la finalización de éste trabajo, y de manera muy especial por enseñarme el sentido filantrópico de la Maestría.

A los técnicos laboratoristas Mauricio Arellano Quintero y José Indalecio Flores Santa María, por su apoyo en el desarrollo de la fase experimental de éste trabajo.

DEDICATORIAS

A Dios por su amor infinito, y por su eterna compañía durante mi instante de vida.

A mis padres, quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede dársele a un hijo: Amor. Además de que, sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme; y cuya ilusión de su existencia ha sido verme convertido en una persona de provecho.

A mis profesores de la Maestría, por su aporte académico, además de su inmensurable apoyo y amistad que me brindaron durante mi estancia de estudio.

A mis compañeros de la Maestría, Carolina, Daylan, Adrián, Cesar R., Cesar S., Ivanhoe y Joaquín, que me brindaron su amistad y apoyo durante mi estadía en Chapingo.

A mis amigos de toda la vida, Eduardo, Jesús, Mario, Miguel, Jorge, Claudia, Elizabeth, Marlenn, Jehan y Cristina (qepd) por su amistad incondicional, además de que en su momento estuvieron para apoyarme y dar palabras de aliento para que no desistiera en el intento.

A todas las personas que me brindaron su amistad durante mi estadía en Chapingo. En especial a Jorge, Teresa, Octavio y Anastasio.

DATOS BIOGRÁFICOS

Francisco Escorza Pérez, realizó sus estudios de licenciatura en el Instituto de Ciencias Agropecuarias dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), obteniendo el título de Ingeniero Agroindustrial; Estudió la Especialidad en Calidad Total en el Instituto de Ciencias Exactas de la UAEH; De manera profesional ha trabajado en el sector público y privado, relacionado con la producción de leche y laticinios. Además, ha trabajado en el sector educativo a nivel licenciatura.

**EFFECTO DEL LAVADO DE LA CUAJADA SOBRE LAS PROPIEDADES
TEXTURALES Y REOLÓGICAS DE UN QUESO DE PASTA SEMIDURA
(Queso tipo Manchego mexicano)**

**EFFECT OF THE WASHING OF CURD ON THE TEXTURAL AND
RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SEMIHARD CHEESE
(Mexican Manchego Cheese)**

Escorza-Pérez F.¹, Santos-Moreno A.², Aguirre-Mandujano E.³, Hernández-Montes A.³, Villegas-de Gante A.³

RESUMEN

Se estudió la composición química, estado fisicoquímico, comportamiento reológico y textural de quesos tipo Manchego mexicano preparados a tres niveles de lavado de cuajada (0, 25 y 50%), con trabajo del grano a dos periodos (20 y 40 min). El estado fisicoquímico, comportamiento reológico y textura se observaron a diferentes periodos (7, 15, 30 y 60 días). El lavado de la cuajada propició aumento significativo ($P \leq 0.05$) del contenido de humedad y NaCl, así como, la pérdida parcial de calcio y fósforo en el queso. Los quesos de pasta lavada mostraron pH y tasas de proteólisis significativamente mayores ($P \leq 0.05$). Quesos de pasta lavada mostraron menores valores significativos ($P \leq 0.05$) de firmeza y resiliencia, contrario a los de cohesividad. Los quesos con nulo o bajo nivel de lavado (0 y 25%) mostraron incremento significativo ($P \leq 0.05$) del esfuerzo para los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G''), contrapuesto a una ligera disminución a un nivel mayor (50%). El lavado de la cuajada propició aumento significativo de la zona viscoelástica lineal en G' y G'' descrita como una función del porcentaje de deformación.

Palabras clave: Queso, lavado de cuajada, propiedades viscoelásticas, reología, textura.

SUMMARY

The chemical composition, physicochemical state, rheological and textural behavior of Mexican Manchego cheeses prepared using three levels of curd washing at 0%, 25% and 50%, along with the working of the grain were studied during two periods (20 min and 40 min). The physicochemical state and rheological and textural behaviors were observed on different days (7, 15, 30 and 60 days). The washing of the curd propitiated a significant increase ($P \leq 0.05$) in the moisture and NaCl contents, as well as the partial loss of calcium and phosphorus in the cheese. Cheeses with washed curd showed significantly higher pH and proteolysis rates ($P \leq 0.05$). Cheeses with washed curd showed significantly lower values ($P \leq 0.05$) of firmness and resilience, while the opposite occurred in their level of cohesiveness. Cheeses with no or a low amount of wash (0% and 25%) showed a significant increase ($P \leq 0.05$) of stress for the storage modules (G') and loss (G''), opposed to a slight decrease at higher level (50%) of washing. The washing of the curd propitiated a significant increase of the lineal viscoelastic zone in G' and G'' described as a function deformation percentage.

Key words: Cheese, curd washing, viscoelastic properties, rheology, texture,

¹ Egresado de la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo.

² Director de tesis. Profesor Investigador del Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo.

³ Asesor de tesis. Profesor Investigador del Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo.

ÍNDICE

Agradecimientos.....	i
Dedicatorias.....	iii
Datos biográficos.....	iv
Resumen.....	v
Índice.....	vi
Lista de cuadros.....	ix
Lista de figuras.....	xi
	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Reconocimiento del queso tipo Manchego mexicano.....	3
2.2 El lavado de la pasta como operación de la fabricación de quesos.....	6
2.3 La influencia del pH en la composición y estructura del queso.....	9
2.4 La influencia del pH en el calcio y fósforo, y su consecuente efecto en la estructura del queso.....	14
2.5 Maduración del queso.....	22
2.5.1 Agentes proteolíticos.....	22
2.5.1.1 El coagulante.....	23
2.5.1.2 Proteasas originarias y endógenas en la leche.....	23
2.5.1.3 Cultivos iniciadores.....	23
2.5.1.4 Cultivos iniciadores adjuntos.....	23
2.5.1.5 Cultivos no iniciadores de bacterias ácido lácticas.....	23
2.6 Métodos para la aceleración del madurado del queso.....	24
2.6.1 Uso de temperaturas elevadas de maduración.....	25
2.6.2 Adición de enzimas exógenas.....	25
2.6.3 Adición de “Slurry” de queso.....	26

2.6.4	Uso de cultivos iniciadores atenuados.....	27
2.6.5	Uso de cultivos adjuntos.....	27
2.6.6	Bacterias iniciadoras genéticamente modificadas.....	28
2.7	Métodos químicos para determinar la proteólisis en queso.....	29
2.7.1	Métodos específicos.....	29
2.7.2	Métodos no específicos.....	29
2.8	La textura del queso y su medición.....	32
2.8.1	Pruebas empíricas.....	34
2.8.2	Pruebas imitativas.....	34
2.8.3	Pruebas fundamentales.....	35
2.8.4	Análisis de perfil de textura.....	36
2.9	Reología.....	40
2.9.1	Pruebas reológicas utilizadas en alimentos.....	43
2.9.1.1	Pruebas reológicas fundamentales.....	44
2.9.1.1.1	Pruebas trascendentales.....	44
2.9.1.1.2	Pruebas dinámicas de baja amplitud.....	45
2.9.2	Determinación de la región viscoelástica lineal.....	51
2.9.3	Propiedades reológicas del queso.....	56
2.10	Análisis estadístico de mediciones repetidas.....	63
III	Materiales y métodos.....	66
3.1	Elaboración y almacenamiento del queso.....	66
3.2	Análisis bromatológicos.....	68
3.3	Determinación de proteólisis en el queso.....	69
3.4	Análisis de perfil de textura.....	71
3.5	Análisis bromatológico.....	72
3.6	Análisis de la información.....	74
3.6.1	Diseño experimental.....	74

3.7 Análisis de varianza.....	76
3.8 Comparación de medias.....	76
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	77
4.1 Composición del queso.....	77
4.2 Proteólisis, índice de maduración, actividad de agua y pH.....	81
4.3 Textura (análisis de perfil de textura).....	86
4.4 Reología del queso.....	91
V CONCLUSIONES.....	106
VI BIBLIOGRAFÍA.....	108
VII Anexos.....	121

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1.-	Límites críticos de deformación de la zona viscoelástica lineal de varios quesos.....	54
2.-	Tratamientos de queso tipo Manchego mexicano.....	66
3.-	Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en la composición química del queso tipo Manchego mexicano.....	78
4.-	Promedios de la composición química del queso tipo Manchego mexicano expresado como porcentajes del peso del queso.....	78
5.-	Promedios de la composición química del queso tipo Manchego mexicano expresado como porcentaje del peso del queso.....	79
6.-	Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en aspectos fisicoquímicos del queso tipo Manchego mexicano.....	82
7.-	Principales efectos propiciados por la operación del lavado de la cuajada en aspectos fisicoquímicos dentro de las muestras del mismo lote del queso tipo Manchego mexicano con respecto del factor: tiempo de maduración.....	82
8.-	Promedios de los principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en aspectos fisicoquímicos del queso tipo Manchego mexicano evaluado a diferentes etapas de maduración.....	83
9.-	Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características del perfil de textura del queso tipo Manchego mexicano.....	88
10.-	Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características del perfil de textura, dentro de muestras del mismo lote de queso tipo Manchego mexicano con respecto del factor: tiempo de maduración.....	88
11.-	Promedios de los principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características del perfil de textura del queso tipo Manchego mexicano evaluado a diferentes etapas de maduración.....	89
12.-	Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en los parámetros reológicos del queso tipo Manchego mexicano.....	98
13.-	Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada sobre los parámetros reológicos dentro de muestras del mismo lote de queso tipo Manchego mexicano con respecto del factor: tiempo de maduración.....	98

14.-	Valores medios de los efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada sobre los parámetros reológicos del queso tipo Manchego.....	99
15.-	Valores medios de los puntos críticos de la zona viscoelástica lineal de G' y G'' de queso de pasta lavada tipo Manchego mexicano evaluados a diferentes etapas de maduración.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1.-	Comparación de diferentes métodos para la determinación de proteólisis.....	30
2.-	Grafica típica utilizada para el análisis de perfil de textura.....	37
3.-	Deformación plástica y esfuerzo cedente.....	42
4.-	Regímenes reológicos para alimentos sólidos Viscoelásticos.....	43
5.-	(a) Esfuerzo normal de tensión y compresión; (b) Esfuerzo cortante.....	46
6.-	Esquema del incremento de amplitud en un barrido de amplitud (o deformación) realizado en pruebas oscilatorias.....	50
7.-	Grafica típica de un barrido de amplitud (o deformación) en donde se conforman las curvas de almacenamiento (G') y pérdida (G'').....	52
8.-	Análisis de mediciones repetidas con PROC GLM.....	65
9.-	Esquema de la toma de muestras para el análisis de perfil de textura.....	71
10.-	Esquema de la toma de muestras para pruebas reológicas.....	72
11.-	Esquema de la geometría (PP50/P2) de plato serrado para prevenir el deslizamiento de la muestra durante las pruebas reológicas oscilatorias.....	74
12.-	Módulo de almacenamiento (G') del queso tipo Manchego mexicano en función del tiempo.....	93
13.-	Módulo de pérdida (G'') del queso tipo Manchego mexicano en función del tiempo.....	94

I. INTRODUCCIÓN

El arte o ciencia de la elaboración del queso esta basado en cinco factores clave: la composición de la leche, cantidad y grado de desarrollo de acidez, contenido de humedad, manipulación de la cuajada y las condiciones de maduración. El procedimiento que transforma la leche en queso es, en apariencia, bastante sencilla, pero, en realidad, las múltiples posibilidades y condiciones de fabricación son las que definirán el tipo de queso que se va a obtener. Por esta razón, es necesario entender el rol que toman cada una de las operaciones que intervienen en la manufactura de las diversas variedades de quesos; Una de las operaciones que se realizan en el manejo de la cuajada es el lavado con agua de la pasta, el cual es un proceso que se le efectúa al grano de cuajada suspendido en el suero, dicha operación tiene como objetivos rebajar la acidez y diluir los componentes solubles del coágulo, fundamentalmente la capa de suero que cubre la superficie de los granos de cuajada. Además, cuando estos se mantienen durante un tiempo suficiente en contacto con el líquido de lavado, se extrae por difusión una fracción del suero retenida en el interior de los granos. Entre los componentes diluidos se encuentra la lactosa. Una cuajada lavada representa, tras el desuerado, un contenido relativamente bajo en lactosa. Por lo tanto, sus posibilidades de acidificación se reducen. Una cuajada que ha sido sometida a un pH bajo favorece la eliminación del suero, con la consiguiente retracción de la matriz proteica, además de la pérdida de iones calcio, dichos factores son importantes en la textura del producto final. Además, los quesos demasiado ácidos se desecan y endurecen excesivamente durante su maduración. La técnica del lavado de la cuajada es interesante, pues puede regularse fácilmente haciendo

variar la proporción de líquido de lavado con relación a la cuajada, y su tiempo de contacto entre el líquido y los granos de cuajada. Estos son factores clave para evitar la excesiva retracción de la matriz proteica y regular la compresión de la estructura interna, por lo tanto, al modificar la estructura se modifican sus propiedades mecánicas. Por ello es de suma importancia entender el efecto que tiene el lavado, y hacer un estudio científico más detallado de las propiedades reológicas y texturales del producto final.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 RECONOCIMIENTO DEL QUESO TIPO MANCHEGO MEXICANO.

Aproximadamente una tercera parte de la producción mundial de leche es utilizada en la elaboración de queso (Farkye, 2004). La producción mundial de queso es de ~16.5 millones de toneladas anuales, con una tasa de crecimiento anual de ~3% en los últimos 20 años. Norte América y Centro América, contribuyen con ~28% de la producción mundial (Fox y McSeeney, 2004). Según estadísticas del boletín de leche del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2007), la producción de queso en México se mantiene ligeramente estable con un pronóstico para 2008 de 147 mil toneladas, El consumo a su vez, ha aumentado de 210 mil toneladas en 2002, a 229 mil toneladas en el 2006, situación que ha favorecido la importación de otros tipos de quesos que dan gran variedad de texturas y sabores al mercado nacional. En cuanto a la exportación de los quesos mexicanos, últimamente se ha logrado colocar 2 mil toneladas, esto probablemente debido a el crecimiento de la población hispanoamericana y la influencia de su cultura en los Estados Unidos de Norteamérica (Tunick *et al.*, 2007). La concurrencia de los quesos mexicanos a exposiciones internacionales ha permitido comprobar la aceptación de estos productos en el extranjero, y su nivel de calidad altamente competitivo. Mención especial para el queso tipo Manchego mexicano, que obtuvo el tercer premio de la Exposición Internacional de Quesos de Wisconsin, U.S.A. en los años 70 (Geografía Universal, 1983). Este queso es análogo al queso Monterey Jack, oriundo de California, U.S.A. (Silva *et al.*, 1992). Con lo cual, podría ser el queso adecuado para ser exportado aquel país; además de que es un queso que se produce en varios estados del país, de donde se distribuye a prácticamente toda la republica.

Los quesos mexicanos que actualmente en gradación se elaboran son: Fresco, Doble Crema, Amarillo, Panela, Oaxaca, Chihuahua y Manchego mexicano, este último en séptimo lugar; situación no muy favorecida ya que en 1997 se encontraba en tercer lugar (SIAP, 2007). Cabe mencionar que la mayor parte de los quesos mexicanos son extendidos o análogos, y esto es muy difícil de cuantificar, por lo que, no existen datos que puedan dar una cifra creíble o veraz de esta proporción.

El queso tipo manchego mexicano tiene poco que ver con el Manchego original español, que se elabora con leche de oveja en la región de la Mancha (Toledo, Albacete y Cuenca), España. 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 (Villegas, 2003).

El manchego mexicano, comparte con el español semejanzas en la forma cilíndrico-plana, el peso entre dos a cinco kilos y el tipo de pasta dura. No obstante, difiere en el periodo de maduración, pues mientras el mexicano sufre maduración ligera que no va más allá de dos a cuatro semanas, comercialmente, el español se afina durante varios meses (hasta seis). Este hecho se traduce en un gusto más pronunciado (agudizado por la grasa de la leche de oveja) y una pasta más rica y suave del auténtico manchego español (Villegas, 2003).

El queso manchego mexicano sí está tipificado, estandarizado y sujeto a normas técnicas oficiales, por lo menos propuestas, aunque a menudo no se cumplan estrictamente. Por ello, de manera realista, se debe de hablar de varios quesos “tipo manchego” en México (Cervantes *et al.*, 2006).

Según la Norma NMX-F-462-1984 propuesta, el queso Tipo Manchego Mexicano es definido 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 siete días a temperatura y humedad controladas; sin que hayan empleado en su elaboración grasas o proteínas no provenientes de la leche.

En la norma no se considera una variante del mismo, queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada, cuyo método de elaboración se diferencia por la sustitución de parte del suero por agua sucesivo al cortado de la cuajada (Villegas, 2003). En el queso tipo Manchego mexicano existen diversas modalidades para efectuar el lavado de la pasta; por ejemplo, se puede retirar una fracción de suero original y no reemplazarla por una equivalente de agua a la misma temperatura, sino por una cantidad menor (*e.g.* retirar 50% y adicionar 30% de agua). También, se puede emplear una salmuera diluida (*e.g.* del 5%) que se incorpore como agua de lavado (Villegas, 2004). Es decir, en este producto no existe un método estandarizado para el lavado de la pasta, a pesar de que es una de las principales operaciones que pueden propiciar diferencias entre las dos variantes (“normal” sin lavado y con lavado).

2.2 EL LAVADO DE LA PASTA COMO OPERACIÓN DE LA FABRICACIÓN DE QUESOS.

El arte o ciencia de la elaboración de queso está basada en cinco operaciones clave: selección y pre-tratamiento de la leche, acidificación, coagulación, operaciones post-coagulación o manipulación de la cuajada y maduración (Fox y McSweeney, 2004).

El Proceso que transforma la leche en queso es, en apariencia, bastante sencilla. Sin embargo, las múltiples posibilidades y condiciones de fabricación son las que definirán el tipo de queso que se va a obtener. Por esta razón, es necesario entender el rol que toman cada una de las operaciones que intervienen en la manufactura de las diversas variedades de quesos.

Una de las operaciones que se realizan post-coagulación, es el lavado de la masa con agua, el cual es un proceso que se le efectúa al grano de cuajada suspendido en el suero, dicha operación tiene como objetivos rebajar la acidez y diluir los componentes solubles del coagulo, fundamentalmente la capa de suero que cubre la superficie de los granos de cuajada. Además, cuando éstos se mantienen durante un tiempo suficiente en contacto con el líquido de lavado, se extrae por difusión, una fracción del suero retenida en el interior de los granos. Entre los componentes diluidos se encuentra la lactosa. Una cuajada lavada representa, tras el desuerado, un contenido relativamente bajo en lactosa. Por lo tanto, sus posibilidades de acidificación son reducidas (Veisseyre, 1988).

El principio del deslactosado por lavado de la pasta se basa en el gradiente de concentración de azúcar y minerales que se establece entre el suero contenido en el grano y el suero de suspensión (su entorno), el cual se diluye tras la adición de agua. Se establece así una diferencia de potencial osmótico que favorece la migración de lactosa hacia el suero agitado, disminuyendo la concentración del azúcar susceptible de fermentar posteriormente. Lo anterior permite elaborar quesos con pH final del orden de 5.4-5.6 (Villegas, 2004).

Hay diferentes maneras de realizar el lavado de la cuajada; por ejemplo, en el caso de los quesos de pasta filada como el Mozzarella y Oaxaca, en donde la cuajada se escurre y es introducida en tinas conteniendo agua caliente ~70 °C para dar un proceso de cocimiento y poder malaxar la pasta para formar correas. En otras variedades de quesos holandeses como el Gouda y Edam se llega a retirar una porción de suero equivalente al 25 y 20% respectivamente, para remplazarla por una porción de agua caliente para elevar la temperatura de la mezcla suero-agua a ~38 °C (Walstra *et al.*, 1993). En México, además del queso tipo manchego mexicano versión pasta lavada, existe otro queso de pasta semidura que también experimenta el lavado de la pasta, el queso tipo Port Salut mexicano, en su elaboración se drena aproximadamente el 30% de suero para sucesivamente adicionar agua caliente (40-60 °C) junto con una cantidad de cloruro de sodio y nitrato de sodio, para escaldar la cuajada ~39 °C (Silva *et al.*, 1995).

La operación de lavado de la cuajada también se hace para superar la variación estacional del contenido de lactosa de la leche, el nivel de agua del lavado empleado para los quesos de tipo holandés (Gouda y Edam) es variado de acuerdo a las

concentraciones de lactosa y caseína en la leche, idealmente la proporción de lactosa-proteína debe ser estandarizada. (Smit, 2003).

Lawrence *et al.* (1993), hacen referencia de dos variedades de queso de pasta lavada tales como el Colby y Monterey; mencionan que en comparación con el queso Cheddar éstos tienen una textura más plástica, son relativamente altos en porcentaje de humedad (39 – 40%) y maduran más rápidamente. En su elaboración el suero es drenado hasta que la cuajada precipitada en la tina aparezca en la superficie, para posteriormente, adicionar agua fría, con el fin de reducir la temperatura $\sim 27^{\circ}\text{C}$., Aluden que el contenido de humedad del queso puede ser controlado por la mezcla cuajada-suero-agua. También, citan que el pH es determinado por las porciones de suero removido y agua adicionada, así como el contenido de humedad final es establecido por la temperatura y el tiempo de contacto de dicha mezcla durante el escaldado; esto debido a que dicha operación equilibra el contenido de lactosa residual. Por ultimo, refieren que el contenido de calcio en el Colby es significativamente menor al del queso Cheddar, esto atribuido a la etapa de lavado de la cuajada.

La técnica del lavado de la cuajada es interesante, pues puede regularse fácilmente haciendo variar la proporción de líquido de lavado con relación a la cuajada, y su tiempo de contacto entre el líquido y los granos de cuajada, siendo estos factores claves, para evitar la excesiva retracción de la cuajada propiciada por un pH bajo y regular la compresión de la estructura interna y el contenido de humedad, para así controlar las propiedades mecánicas (reología y textura) del queso; además, los quesos de pasta lavada son prácticamente libres de lactosa, por lo que pueden ser consumidos por

individuos con problemas de intolerancia a la lactosa, sin sus efectos. Por ello es de suma importancia entender el efecto que tiene el lavado, y hacer un estudio científico más detallado de las propiedades reológicas y de textura del producto final.

2.3 LA INFLUENCIA DEL pH EN LA COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL QUESO.

El factor más simple e importante en el control de la calidad del queso es la producción de ácido en la tina, porque esto determina principalmente las características estructurales básicas del queso (Lawrence *et al.*, 1984). Si bien, es una operación básica en la elaboración de muchas variedades de quesos, no lo es de todos (*e.g.* queso tipo Panela).

En la elaboración del queso, la mayor parte de la lactosa (96–98%) se remueve en el desuerado. La concentración de lactosa en la cuajada fresca depende de su concentración en la leche y en el contenido de humedad de la cuajada, y varía de ~1% (p/p) en la cuajada fresca del Cheddar, a ~2.5% (p/p) en la del Camembert (Smit, 2003).

La acidificación de la leche a lo largo de las etapas de fabricación del queso, se ve incrementado progresivamente en las primeras 24 horas y en algunas variedades durante las primeras etapas de maduración (Fox y McSweeney, 2004).

Para quesos madurados la acidificación es normalmente vía producción *in situ* de ácido láctico. El metabolismo de la lactosa a ácido láctico en la cuajada tiene un mayor efecto en la calidad de quesos madurados (Fox *et al.*, 2002).

En quesos elaborados artesanalmente se emplea la microflora natural de la leche. Al contrario, a nivel industrial y de forma más tecnificada, se adicionan cepas de bacterias ácido lácticas (BAL) seleccionadas, a leche pasteurizada para lograr una producción de ácido uniforme y predecible. Para la elaboración del queso tipo manchego mexicano se utilizan fundamentalmente mezclas de cultivos mesófilos heterofermentativos (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*) y homofermentativos (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*) (Silva *et al.*, 1992). Estos últimos, son comúnmente usados para la elaboración de queso Cheddar debido a su habilidad para convertir cerca de 95 % del azúcar fermentado en L-Lactato (Platt y Foster, 1958).

Aunque la “glícólisis” es importante en la disminución del pH durante la elaboración del queso Cheddar, ésta también puede tener consecuencias durante el madurado. El madurado del queso Cheddar involucra la conversión de lactosa en glucosa y galactosa o galactosa-6-fosfato, por medio de cultivos iniciadores. Upreti *et al.* (2006), indican que la mayor disminución de lactosa y por consecuencia el incremento de ácido láctico, ocurre entre el salado y el primer día de madurado.

En la elaboración de algunas variedades de queso, por ejemplo, los quesos holandeses, la cuajada se lava para reducir su contenido de lactosa y de esta manera regular el pH de la cuajada prensada a ~5.3%. En otras variedades, por ejemplo, Cheddar

probable que sea alcanzado. Cuando la distribución del tamaño de las partículas es normal y el tiempo de contacto con el agua de lavado es de 25 minutos, la eficacia de reducir la concentración de lactosa en la cuajada es al menos del 90 %. Más agua causa un ablandamiento inferior, así como también un suero menos “valioso” (van den Berg *et al.*, 2004).

Si es deseado un queso Gouda con un contenido de agua alto (*e.g.* 47%, después del salado), y un pH normal de 5.15, entonces además de un suave corte y agitado; bastante agua a una temperatura relativamente baja debe ser añadida. Para obtener un contenido normal de agua y un pH alto, el suero debe ser drenado y la adición de agua puede ser repetida (van den Berg *et al.*, 2004).

Por otra parte, Dejmek y Walstra (2004), mencionan que añadiendo agua después de que parte del suero ha sido drenado, realiza la sinéresis y da un ligero, pero posiblemente insignificamente, contenido de agua más bajo. Sin embargo, el lavado puede coincidir con un cambio de temperatura y una diferencia en la eficacia del agitado, los cuales afectan la sinéresis. También mencionan un estudio respecto al lavado de la cuajada, en el cual, el agua o una cantidad igual de suero a la misma temperatura fueron añadidas a cierta etapa durante la elaboración del queso; el contenido de agua de la cuajada se determinó a diferentes tiempos. El contenido de agua de la cuajada en la cual, el agua había sido añadida aumentó dos por ciento, pero la diferencia podría ser totalmente explicada teniendo en cuenta la diferencia en el contenido de materia seca en la cuajada húmeda. De ahí mencionen los efectos osmóticos del lavado son insignificantes.

Un cambio en el pH afecta profundamente las propiedades funcionales del queso (Lawrence *et al.*, 1987). Cambios dramáticos en las propiedades del queso ocurren cuando el pH es reducido de 5.4 a 4.9, que resulta de muchos factores, incluyendo la solubilización de gran parte del fosfato coloidal (Rowney *et al.*, 1999), alterando la microestructura en el queso, con la reducción del tamaño de agregados de proteína (Lawrence *et al.*, 1993), y alterando inter-intra enlaces de la red proteica del queso (Luyten *et al.*, 1991).

Pastorino *et al.* (2003), realizaron un estudio para determinar el efecto del pH en la composición química y la relación función-estructura del queso Cheddar, para ello utilizaron bloques de queso empacados al vacío y almacenados a 4 °C, a los cuales les inyectaron (1, 3 y 5 veces) una solución al 20 % de glucono- δ -lactona; posteriormente los analizaron después de 40 días. Mencionan que el más alto nivel de acidulante que utilizaron, promovió la sinéresis. El bajo pH en el queso Cheddar altera las interacciones de proteína, las cuales afectan a su vez la funcionalidad del queso. A un pH arriba de 5.0, la solubilización del calcio disminuye las interacciones proteína-proteína. En contraste, a un pH debajo de 5.0, la precipitación ácida de proteínas supera el efecto opuesto causado por el incremento de la solubilización de calcio y disminuye el contenido de calcio del queso e incrementa las interacciones proteína – proteína.

A pesar de que el pH es un factor importante en las propiedades funcionales de los quesos, existe todavía una carencia de trabajos que demuestren el efecto sólo del pH en la textura del queso. En consecuencia, Watkinson (2001), hizo un estudio de dichos efectos a través del tiempo de madurado en quesos modelo semiduros; menciona que a

un pH bajo el rompimiento de α_{s1} -caseína es más rápido. A pH más altos, la β -caseína se fractura más rápido. Hace referencia además, que cuando el queso tenía 2 días, el incremento en el pH de 5.2 a 6.2 causó que el queso fuera menos desmenuzable y más firme. Por último cita, que la interacción con el tiempo de almacenamiento fue significativo para las propiedades de fractura, área de adhesión y módulo de “deformabilidad”.

Dado que es un hecho que el lavado en la cuajada afecta en su contenido de lactosa y esto a su vez propicia la carencia de sustrato para las cepas de cultivos de BAL para que sea metabolizada a ácido láctico, para bajar el pH, que a su vez, repercute en la estructura de la matriz proteica de caseína y en el producto final en sus propiedades funcionales, es fundamental verificar cómo el pH varía con respecto a la proporción suero-agua del lavado y el tiempo de permanencia en contacto con éste.

2.4 LA INFLUENCIA DEL pH EN EL CALCIO Y FÓSFORO Y SU CONSECUENTE EFECTO EN LA ESTRUCTURA DEL QUESO.

Las sales minerales de la leche son principalmente: fosfatos, citratos, cloruros, sulfatos, carbonatos, bicarbonato de sodio, potasio, calcio y magnesio. El contenido de cenizas de la leche permanece relativamente constante (0.7 – 0.8%), pero las concentraciones relativas de varios iones pueden variar bastante. El fosfato en la leche se encuentra en cinco clases de compuestos: Fosfolípidos, lípidos, caseína, pequeños esteres orgánicos solubles y sales minerales inorgánicas coloidales (750 mg/L; 10% enlazado al calcio y magnesio, 51% H_2PO_4^- , y 39% HPO_4^{2-}) Por otra parte, el calcio de la

leche se encuentra como iones complejos no disociados del citrato, fosfato y bicarbonato (1200 mg/L; 35% calcio iónico, 55% enlazado al citrato y 10 % enlazado al fosfato) (Fox y McSweeney, 1998).

La concentración de fosfato de calcio en la leche es más alta que el de otras de sus sales minerales solubles, y puede ser mantenida en solución al pH normal de la leche. Por lo tanto, existe particularmente en forma soluble y parcialmente en una forma insoluble o coloidal asociado con la caseína (Fox y McSweeney, 1998).

La principal sal coloidal es el fosfato de calcio; cerca del 67% y 57% del calcio y fosfato total respectivamente, están en fase coloidal. Las sales minerales insolubles son por lo tanto, frecuentemente referidas como fosfato de calcio coloidal (FCC) aunque estas incluyen otros componentes como potasio, sodio, magnesio y citrato (Walstra *et al.* 2006). El FCC está cercanamente asociado con la micela de caseína. Éste no precipita y se considera como protector contra la precipitación de la caseína (Fox y McSweeney, 1998).

Aunque el FCC representa sólo cerca del 6% del peso en seco de la micela de caseína. El FCC tiene un rol importante en sus propiedades y estructura, y por lo tanto, tiene mayores efectos en las propiedades de la leche. FCC es el factor integrante de la micela de caseína; Sin él la leche no es coagulada por el cuajo y sus propiedades de estabilidad al calor serían significativamente alteradas. De hecho, la leche podría ser un fluido totalmente diferente sin el fosfato de calcio (Fox y McSweeney, 1998).

La micela de caseína está coloidalmente dispersa en la leche en forma de agregados de proteínas de distintos tipos de caseína junto con FCC. La caseína es una familia de fosfoproteínas, la cual, consiste de cuatro miembros, designados como: α_{s1} -, α_{s2} -, β - y κ -caseína. Juntas constituyen cerca del 80 % de la proteína de la leche de bovino (Walstra y Van Vilet, 1986).

La primera etapa de la coagulación enzimática es independiente del calcio (Walstra y Jenness, 1984); La segunda etapa (no enzimática) de la coagulación es dependiente de iones calcio, aunque esta función es intercambiable con FCC. Las enzimas del cuajo causan una división de la κ -caseína de tal modo que los “cabellos” que sobresalen de las micelas desaparecen o más precisamente llegan a ser más cortos. El macropéptido-caseico liberado se disuelve, mientras la para- κ -caseína permanece en la micela. La caseína modificada es referida como paracaseína. Esta no puede ser disuelta ni desaparecer en el suero de la leche. A causa de esto, las micelas de paracaseína de leche se agregan, siempre y cuando, la actividad de Ca^{2+} sea suficiente (Walstra *et al.*, 2006). La tercera etapa de la coagulación por cuajo implica la sinéresis del gel con la expulsión de agua y reordenamiento de la red del gel (Lucey y Fox, 1993).

En la elaboración de queso Cheddar, aproximadamente 60 y 55% del calcio y fósforo son retenidos en el queso; Del calcio y fósforo perdido, 85 y 90% respectivamente, son removidos en el suero del drenado (Lawrence y Gilles, 1982). Durante la elaboración del queso Cheshire, aproximadamente 40 y 45% del calcio y fósforo, respectivamente, son retenidos en el queso (Lucey y Fox, 1993).

Las diferentes condiciones usadas en la elaboración de diferentes variedades de queso, por ejemplo, las diferencias en el pH del suero drenado, resultan en diferencias en las características de composición. En los casos antes mencionados, se puede observar un amplio rango de diferencia del contenido de calcio y fósforo.

Tres factores principales afectan la desmineralización de la cuajada: 1) La pre-acidificación de la leche, convierte el calcio y fósforo de forma coloidal insoluble a forma soluble, que puede ser removida de las partículas de cuajada durante el drenado del suero. 2) El pH del suero drenado afecta la desmineralización de la cuajada, el cual, es mayor cuando el ácido es producido previo al desuerado (*e.g.* queso Cheddar), que cuando el ácido es producido después del prensado (*e.g.* queso Gouda y Emmental), principalmente porque una pequeña porción relativa de suero es removida después del drenado inicial. Reduciendo el pH del suero antes de su drenado, incrementa la pérdida de minerales de la cuajada (*e.g.* en el queso Cheddar, el cual, es normalmente drenado a un pH 6.1 tiene un contenido mineral más bajo que el queso Emmental, el cual, es drenado a un pH de 6.5). La tasa y la etapa en la cual, el ácido láctico es principalmente producido, son características de cada variedad. 3) La temperatura de cocimiento es importante para la desmineralización de la cuajada; Cuando las partículas son calentadas rápidamente a altas temperaturas (*e.g.* 52 °C para el queso Emmental), las partículas se encogen rápidamente, expeliendo la fase acuosa, y consecutivamente, la forma soluble de calcio y fósforo. Sin embargo, las partículas que son calentadas a una temperatura más baja, la sinéresis se da lentamente extendiendo el periodo, facilitando la expulsión de minerales solubles en el suero, cuando el pH disminuye (Lucey y Fox, 1993).

Existe una cercana relación entre la tasa de producción de ácido, pH y contenido mineral, los cuales, influyen sumamente la estructura del queso y por lo tanto, su textura (Lucey y Fox, 1993).

Durante la formación de la cuajada provocada por cuajo, la formación del gel es grandemente influenciada por el pH, la concentración de calcio, el contenido de proteína y la temperatura (Lucey, 2002). El gel, cualquiera que sea su modo de obtención, constituye un estado físico inestable. Según las condiciones en las que se encuentra, el líquido de dispersión (lactosuero) que lo impregna. Este se separa más o menos rápido y la masa sólida restante constituye la cuajada. Los geles evolucionan según su modo de formación, y dejan escapar espontáneamente el lactosuero como consecuencia de la contracción de la red inicial.

Cuando el gel ha alcanzado suficiente firmeza, la cual es tradicionalmente determinada subjetivamente por el quesero, éste la corta con liras. El troceado del gel tiene como objetivo multiplicar la superficie de exudación y, por tanto, favorecer la evacuación del suero.

En los quesos en los cuales se requiere un bajo contenido de humedad, la cuajada es cortada en pequeñas partes usando “liras”, y una alta temperatura de cocimiento.

Después del cortado las partículas de cuajada, se agitan continuamente durante el calentamiento. Esta operación tiene por objeto acelerar y completar el desuerado renovando continuamente la superficie de exudación de suero e impidiendo la adherencia de los granos con lo que se forma un amasijo que retiene líquido.

En la elaboración de quesos de pasta semidura, por lo regular durante la agitación también suele darse un calentamiento, el cual tiene por efecto, disminuir el grado de hidratación de los granos de cuajada para favorecer la sinéresis.

Si la leche se pre-acidifica o madura con cultivos iniciadores, entonces el pH en la cuajada es más bajo que el pH de la leche. El pH bajo resulta en la solubilización del FCC y ligeramente en la disociación de la caseína (al menos a una temperatura normalmente utilizada para el cuajado de la mayoría de los quesos con cuajado enzimático) (Lucey, 2003).

El desarrollo de una textura fibrosa peculiar es parte del proceso de elaboración de un pequeño número de variedades de queso. El texturizado pertenece a dos clases: El queso Cheddar y algunas variedades estrechamente relacionadas, en las cuales, una textura fibrosa es desarrollada previo al prensado; y quesos de pasta filada, tales como: Mozzarella, Kashkaval y Provolone, en los cuales la texturización es lograda por calentamiento, estirado y amasado de la cuajada. La operación conocida como “Chedarizado” se considera particular del proceso de elaboración del queso Cheddar. Durante el Chedarizado, la cuajada fluye bajo su propio peso, dirigiendo la fusión y deformación de las partículas de cuajada. Según Fox *et al.* (2000), el chedarizado promueve varias condiciones fisicoquímicas que conducen al flujo de cuajada y texturización:

- La solubilización de calcio micelar, el cual, está enlazado a la caseína y actúa como un agente de unión entre las micelas/submicelas de caseína.
- La disminución en la concentración de calcio micelar, causando un incremento en la proporción de calcio soluble enlazado a la caseína (el calcio soluble como porcentaje del calcio total en la cuajada, aumenta del 5 al 40% cuando el pH disminuye de 6.15 a 5.2).
- Aumento en la hidratación de la paracaseína, la cual aumenta con la disminución del pH en el rango de 6.6 – 5.15.
- Un aumento del carácter viscoso de la cuajada.

El aumento en la hidratación de la caseína con un pH disminuido, es probablemente una consecuencia del aumento de la proporción de calcio soluble a micelar. Ha sido encontrado en sistemas modelo de caseína, que la hidratación de la caseína está inversamente relacionada a la concentración de calcio ligado a la caseína (Sood *et al.*, 1980).

Como una consecuencia de la disminución en el calcio enlazado a la caseína y un aumento en la hidratación de la misma, la matriz caseica viscoelástica experimenta un flujo limitado, físicamente sin restricción, especialmente cuando se apila y prensa bajo su propio peso. El flujo de cuajada causa la orientación plana deseada de las hebras de la red paracaseica (Fox *et al.*, 2000; Fox y McSweeney, 2003).

Debido a esto, varias interacciones, iónicas y/o hidrófobas, que son consideradas, como responsable de la sinéresis siguen durante el proceso de chedarizado, pero esto no parece haber sido estudiado (Fox *et al.*, 2000). Por el contrario, en el queso Mozzarella, a un nivel microestructural, la plastificación resulta de una linearización de la matriz paracaseica en fibras y aglutinamiento de grasa dentro de gotas, las cuales, son atrapadas dentro y muestran la misma orientación de las fibras. (Fox y McSweeney, 2003).

Los cambios fisicoquímicos responsables de la plastificación de la cuajada no han sido dilucidados pero parecen ser una consecuencia de: Un adecuado grado de hidratación de la caseína de la cuajada chedarizada, la cual, es controlada por su pH, concentración de calcio total y proporción de calcio soluble a micelar; y La coalescencia inducida por calor de la grasa libre la cual lubrica el flujo de la matriz paracaseica; La prolongación y esfuerzo de corte aplicado a la cuajada, la cual, ayuda en el desplazamiento de planos contiguos de la matriz paracaseica (Fox y McSweeney, 2003).

La relación entre hidratación y pH puede ser explicado por la dominancia de dos fuerzas opuestas bajo la región de pH de 6.0 a 5.0: 1) Aquellas que promueven la neutralización de cargas, las cuales dirigen a una adecuada deshidratación y agregación de la paracaseína, la cual, en turno impide el flujo a una temperatura alta; 2) Aquellas que promueven la solubilización de calcio micelar, el cual conduce a la hidratación de la caseína y flujo (Fox y McSweeney, 2003).

2.5 MADURACIÓN DEL QUESO

Muchos quesos son madurados después de su elaboración por periodos que van desde dos semanas, (*e.g.* queso Mozzarella) a más de dos años (*e.g.* queso Parmigiano-Reggiano o queso Cheddar extra madurado). Durante la maduración ocurren cambios bioquímicos y microbiológicos que dan por resultado el desarrollo de características de sabor y textura. Los cambios bioquímicos en el queso durante el madurado pueden ser agrupados, dentro de eventos primarios, (lipólisis, proteólisis y metabolismo de la lactosa residual, lactato y citrato), o eventos secundarios (metabolismo de ácidos grasos y de aminoácidos) (McSweeney, 2004).

La proteólisis, lipólisis y metabolismo de lactosa residual, lactato y citrato (erróneamente referido colectivamente como glicólisis [Smit, 2003; McSweeney, 2004]) son las tres principales reacciones bioquímicas responsables de los cambios básicos durante el periodo de maduración (Azarnia *et al.*, 2006).

2.5.1 Agentes proteolíticos

La proteólisis es el principal y más complejo evento bioquímico, el cual sucede durante la maduración de muchas variedades de quesos (Fox y Wallace, 1997; Sousa *et al.*, 2001). Según McSweeney y Fox (1997), los agentes proteolíticos en el queso se originan de cinco fuentes: 1) El coagulante; 2) Proteasas originarias y endógenas de la leche; 3) Los cultivos iniciadores BAL; 4) Los cultivos adjuntos; 5) Cultivos no iniciadores de bacterias ácido lácticas.

2.5.1.1 *El coagulante.* La quimosina y la pepsina de bovino (en el caso de los cuajos animales) o quimosina recombinante o aspartil-proteasas a partir de hongos (en quesos elaborados usando sustitutos de cuajo animal), son responsables de la producción de péptidos largos.

2.5.1.2 *Proteasas originarias y endógenas en la leche.* La principal proteasa endógena de la leche es la plasmina, pero también proteasas de células somáticas y enzimas de la microflora nativa (particularmente proteasas termo-estables de psicrófilos) están igual presentes.

2.5.1.3 *Los cultivos iniciadores.* *Lactococcus* spp, *Lactobacillus* spp, y *Streptococcus salivarius* ssp *thermophilus* usados como iniciadores para la elaboración del queso, tienen considerables sistemas proteasas/peptidasas. Las cuales, contribuyen a la proteólisis en el queso, particularmente, en el nivel de producción de péptidos de cadena corta y aminoácidos libres.

2.5.1.4 *Los cultivos iniciadores adjuntos.* Proteasas y peptidasas de los cultivos iniciadores adjuntos son particularmente importantes para la proteólisis en ciertas variedades de quesos. *Penicillium* spp y microorganismos esparcidos en la superficie de quesos madurados, producen potentes proteasas extracelulares y peptidasas.

2.5.1.5 *Cultivos no iniciadores de bacterias ácido lácticas.* La microflora de esencialmente todos los quesos es caracterizada por el crecimiento de cultivos no iniciadores de bacterias ácido lácticas (típicamente *Lactobacillus* spp pero también

Pediococcus spp y quizás otro genero). La contribución de enzimas de dichas cepas en la proteólisis del queso Cheddar parece ser relativamente en el nivel de producción de péptidos de cadena corta y aminoácidos libres.

La bioquímica del madurado del queso, ha sido ampliamente revisada por Fox *et al.* (1996), Fox y McSweeney (1997), McSweeney y Sousa (2000); Sousa *et al.* (2001) y McSweeney (2004).

2.6 MÉTODOS PARA LA ACELERACIÓN DEL MADURADO EN EL QUESO

El afinado del queso es lento y consecuentemente un proceso caro. El gasto del madurado del queso se origina principalmente del costo de inventario asociado con el mantenimiento de una gran cantidad de quesos en almacenamiento y el costo de capital que se propicia de facilitar el madurado mediante condiciones adecuadas de humedad y temperatura durante el tiempo suficiente (Fedrick, 1987; Smit, 2003; Farkye, 2004).

Como se menciona, el madurado es un proceso relativamente caro para la industria quesera, la reducción del tiempo de maduración sin destruir la calidad del madurado tiene beneficios tecnológicos y económicos.

La aceleración del tiempo de madurado ha recibido considerable atención en la literatura científica. Este tópico ha sido revisado Fedrick (1987); Fox (1989); El soda y Pandian (1991); Smit (2003); Azarnia (2006).

Investigaciones dentro del tema de aceleración del madurado han sido hechas por muchos años y una amplia variedad de métodos han sido propuestos; dentro de los más relevantes citados en las revisiones que arriba se hace referencia, son: 1) Uso de elevadas temperaturas de maduración; 2) Adición de enzimas exógenas; 3) Adición de “*slurry*” (mezcla de agua y queso pre-madurado y macerado) de queso; 4) Uso de cultivos iniciadores atenuados; 5) Uso de cultivos adjuntos; 6) Bacterias iniciadoras genéticamente modificadas.

2.6.1 Uso de temperaturas elevadas de maduración. Es técnicamente el más simple método para acelerar la maduración y el de más bajo costo de refrigeración. El inconveniente de esta propuesta es un incremento en el riesgo de microorganismos no específicos y esporulados incrementen las reacciones de maduración, posiblemente dirijan a sabores desproporcionales o sabores extraños (Wilkinson, 1993). Fedrick (1987) indica que la temperatura más alta recomendada para el madurado del queso es de 15 °C; y puede ser usada por periodos prolongados. El Soda y Pandian (1991), sugieren que este método sea utilizado en industrias donde se empleen suficientes procesos higiénicos y leche pasteurizada para la elaboración del queso, con el fin, de disminuir el riesgo de contaminación y crecimiento de microflora indeseable.

2.6.2 Adición de enzimas exógenas. El incremento de la cantidad de enzimas clave usadas en la elaboración del queso dirige a su aceleración. Las proteasas y peptidasas en el queso incluyen plasmina, quimosina, proteasas y peptidasas extracelulares endógenas y exógenas de las BAL y cultivos de bacterias ácido lácticas no iniciadores (Azarnia *et al.*, 2006). La adición de enzimas exógenas incrementa la acumulación enzimática, la

cual eventualmente, ayuda a acelerar la tasa de ciertas reacciones en el queso. Según Smit (2003), algunas desventajas en su uso son: Las barreras legales en muchos países restringe su uso; Si la enzima es adicionada a la leche (~95%) es perdida en el suero y las enzimas proteolíticas degradan la caseína a péptidos, los cuales son perdidos en el suero, resultando en la reducción del rendimiento quesero; y el costo relativamente caro de preparaciones comerciales de enzimas. También menciona, algunos estudios para evitar la pérdida de enzimas y propuestas para ubicar la mejor etapa de elaboración donde se sean adicionadas. Dentro de las más relevantes esta la micro-encapsulación de las enzimas antes de la adición a la leche para ayudar a proteger la caseína de la degradación temprana y facilitar la retención de la enzima en la cuajada y reducir la pérdida de la misma en el suero. Dentro de las propuestas para elegir la mejor etapa del proceso para adicionar las enzimas refiere cuatro puntos posibles en la leche antes de la coagulación; durante y después del cocimiento del grano; Mezcladas con la sal del salado directo; Y disueltas en la salmuera del salado por inmersión. Cita además que en cierto tipo de quesos semiduros tales como el Edam y Gouda que tienen la característica de pasta lavada en su proceso de elaboración. Esta podría ser otra etapa para la adición de enzimas, aunque el flujo de la mezcla suero-agua podría impedir la absorción de las enzimas.

2.6.3 Adición de "slurry" de queso: Es un método sencillo y hasta cierto punto económico. Este consiste en adicionar de 1 a 2% del peso de la leche, una mezcla de agua con queso previamente madurado antes del moldeado. El Soda y Pandian (1991), hacen referencia a un experimento en queso Edam con tratamientos de "slurry" a porcentajes de 0.5, 5 y 10; mencionan dentro de las conclusiones de dicha investigación,

que las propiedades organolépticas del tratamiento al 10% resulto en un buen “cuerpo” y sabor a los 30 días de maduración y éste fue comparable en calidad con el queso de 75 días de afinado hecho con 5% y el queso control de 105 días de maduración.

2.6.4 Uso de cultivos de iniciadores atenuados. Las bacterias atenuadas pueden ser definidas como BAL incapaces para producir niveles significativos de ácido durante la elaboración del queso, pero las cuales proveen enzimas activas de iniciadores que son importantes en la maduración del queso y desarrollo del sabor (Smit, 2003). Los cultivos de iniciadores atenuados son adicionados a la leche junto con cultivos iniciadores normales. Los cultivos se atenúan mediante tratamiento térmico casi letal o congelación, a fin de retardar la producción de ácido sin reducir excesivamente su sistema enzimático proteolítico. Esto se ha obtenido mediante métodos físicos tales como el choque térmico, la congelación, la liofilización y el secado por aspersión (Sánchez, 2003).

2.6.5 Uso de cultivos adjuntos. Muchos estudios han demostrado que los cultivos de bacterias ácido lácticas no iniciadores juegan un rol importante en el desarrollo de sabor en el queso (Fox *et al.*, 1998). Las bacterias ácido lácticas no iniciadoras las cuales están presentes en conteos debajo de 100 cfu g^{-1} en quesos de un día, crecen en ambientes hostiles del queso (bajo pH, baja a_w , baja concentración de lactosa y anaeróbico) para alcanzar conteos de 10^7 - 10^8 cfu g^{-1} en queso de dos meses, la tasa de crecimiento depende de la temperatura. Las bacterias ácido lácticas no iniciadoras logran entrar a la leche de varias fuentes. La contaminación de la leche post-procesamiento resulta en un incremento de este tipo de bacterias. Este grupo de bacterias incluye facultativamente heterofermentativos facultativos (mesofilicos) lactobacilos,

micrococcos, pediococos y enterococos, el genero lactobacillus mesofílico (*Lactobacillus casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*) usualmente domina la microflora de bacterias ácido lácticas no iniciadoras (Smit, 2003). El queso elaborado de leche cruda desarrolla un sabor más intenso que los quesos elaborados de leche pasteurizada, lo cual puede ser atribuido a la destrucción de la flora natural de la leche por la pasteurización (McSweeney *et al.*, 1993). Este grupo de bacterias que contamina el queso post-procesamiento son seleccionadas y utilizadas comercialmente como cultivos adjuntos con cultivos iniciadores para incrementar la proteólisis y así realzar la intensidad del sabor (Wilkinson, 1993).

2.6.6 Bacterias iniciadoras genéticamente modificadas. Las técnicas de ingeniería genética representan los más recientes métodos para acelerar el tiempo de maduración del queso. La modificación genética de las BAL utilizadas en las industrias lácteas ha traído un progreso considerable. Investigaciones recientes no solamente están enfocadas en la modificación genética para obtener un mejoramiento en la tasa de aceleración del queso, sino además en el desarrollo de resistencia a bacteriófagos y mecanismos para la inhibición *in vivo* de microorganismos indeseables (El Soda y Pandian, 1991). Sin embargo, lo concerniente a la seguridad, consumo y aceptación en la industria es el mayor obstáculo en el uso de estos métodos para la aceleración del proceso de madurado del queso. Según Azarnia *et al.* (2006), las técnicas de ingeniería genética pueden ser divididas dentro de cuatro categorías: 1) microorganismos grado alimenticio, los cuales sobreproducen enzimas recombinantes tales como, peptidasas, esterasas y enzimas catabólicos de aminoácidos, etc.; 2) cultivos iniciadores genéticamente modificados productores de seleccionadas peptidasas, esterasas y enzimas catabólicas de

aminoácidos, de *Lactobacillus lactis* vía un sistema clonado grado alimenticio; 3) clonación de autolisina (hidrolasa) dentro de cultivos iniciadores; y 4) ingeniería metabólica de cultivos iniciadores.

2.7 MÉTODOS QUÍMICOS PARA DETERMINAR LA PROTEÓLISIS EN QUESO

McSweeney y Fox (1996), revisaron las técnicas para la evaluación de la proteólisis en queso. Esta revisión sugiere que estas técnicas caen dentro de dos categorías: Métodos no-específicos y específicos.

2.7.1 Métodos específicos, son aquéllos que determinan péptidos individuales, estos son métodos electroforéticos y cromatográficos.

2.7.2 Métodos no-específicos, incluyen determinación de nitrógeno (N) soluble o extraíble con varios solventes o medición de grupos reactivos. Estos métodos parten de que la caseína es insoluble en muchos solventes, pero péptidos producidos de ella sí pueden ser solubles y de esta manera la proporción de nitrógeno soluble se incrementa con la proteólisis. Una amplia variedad de métodos para evaluar la proteólisis parten de este principio y son útiles para determinar la magnitud de la proteólisis; los péptidos originados por la proteólisis varían en tamaño y pueden ser precipitados y separados mediante filtrado y/o centrifugado del solvente. Varios sistemas de solventes se usan para extraer péptidos en el primer paso de su purificación [e.g. soluciones con urea (4 a 6 mol/L); agua (el más comúnmente utilizado); soluciones conteniendo sales (CaCl_2 y NaCl); solventes orgánicos (cloroformo/metanol 2:1; cloruro de metileno, metanol-agua; etanol-agua; ácido tricloroacético, ácido fosfotúngstico)].

La gran mayoría de métodos utilizados cuantifican el N por medio del método macro-Kjeldahl, aunque existen otros métodos alternativos (absorbancia de luz ultravioleta a 280 nm; reactivos Folin-Ciocalteu; método de Lowry).

El ácido tricloroacético (CCl_3COOH : ATCA) es un clásico precipitante de proteína el cual ha sido utilizado ampliamente para este propósito. El cuajo es responsable de algo del nitrógeno soluble en ATCA 12%, pero las proteasas y peptidasas de iniciadores hacen una substancial contribución, para la formación de nitrógeno soluble en ATCA 12%. Venema *et al.* (1987), citado en McSweeney y Fox (1996), reporto que el nivel de nitrógeno soluble en ATCA 12% es un mejor índice de maduración que el nitrógeno soluble en agua (Figura 1).

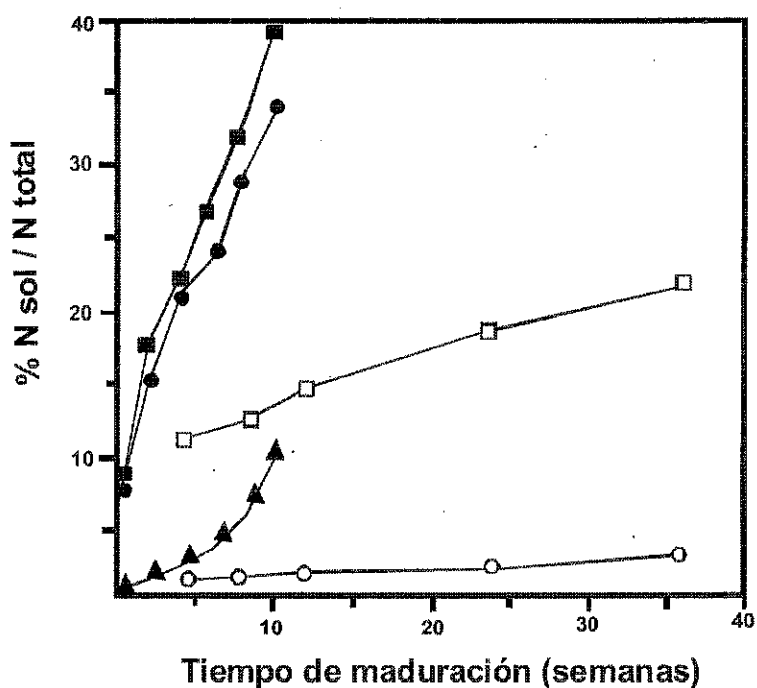


Figura 1- Comparación de diferentes métodos para la determinación de proteólisis. Formación de N soluble a pH 4.6 (■), N soluble en ácido tricloroacético 12% (●), N soluble en ácido fosfotúngstico 5% (▲), en queso azul artesanal irlandés; y formación de N soluble en agua (□) y N soluble en ácido fosfotúngstico (○) en queso Cheddar comercial. Fuente: McSweeney y Fox (1996).

En la figura 1 se puede apreciar que la línea correspondiente al N soluble en ATCA 12% es muy pronunciada en las primeras 10 semanas de maduración, por lo que se deduce que debido a la inclinación de su pendiente puede ser una técnica muy adaptable para monitorear la proteólisis en quesos “jóvenes” de poco tiempo de maduración.

La operación del lavado de la cuajada no está catalogada por consenso como una técnica para acelerar la maduración del queso. Sin embargo, Salvador (1995), la propone como tal; en su estudio evaluó el efecto del lavado de la pasta en la aceleración de la maduración del queso Chapingo. Elaboró 16 quesos de ~1 kg, agrupándolos en cuatro niveles de lavado (0, 25, 50 y 90%). Los almacenó en una cámara frigorífica a 8-10 °C y 70-80% H.R. Tomó muestras para analizar (análisis de perfil de textura, humedad, grasa, cenizas, proteína total, proteína soluble en H₂O, e índice de maduración y un análisis sensorial [aceptabilidad]) sus variables respuesta de los quesos, a los 7, 15 y 30 días de madurado. Llegó a las conclusiones siguientes: el incremento del nivel de lavado, aumento la proteína soluble en H₂O, pH, índice de maduración, cenizas, elasticidad y “masticabilidad”. Esta metodología acortó el periodo de maduración del queso Chapingo a un periodo de ~15 días. Sin embargo, cita que dicha aceleración de la maduración afecta de manera negativa el sabor del producto final principalmente en los niveles 50 y 90%.

Hasta este punto se ha mencionado que la operación del lavado de la pasta acelera la maduración, pero además, se ha dicho que aumenta el pH y disminuye sales primordiales (Ca²⁺ y PO₄³⁻) en la estructura, tanto del coágulo como del producto final.

Debido a que los cambios tanto químicos y físicos en el queso, se dan con respecto del tiempo de maduración tendremos que considerar a éste como un factor dentro de nuestro estudio.

2.8 LA TEXTURA DEL QUESO Y SU MEDICIÓN.

Los cuatro principales factores de calidad en los alimentos son los siguientes:

- 1) *Apariencia*, comprende color, forma, tamaño, brillo, uso del sentido de la vista.
- 2) *Sabor*, comprende el gusto (percibido por la lengua) y olor (percibido en el centro olfativo de la nariz), es la respuesta de receptores en las cavidades oral y nasal por estimulación química. Son llamados “sentidos químicos”.
- 3) *Textura*, es principalmente la respuesta del sentido del tacto a estimulaciones físicas que resultan del contacto entre algunas partes del cuerpo y el alimento. El sentido del tacto es el principal método para sentir la textura que es “kinestésico” (sensación o percepción del movimiento y la posición), y algunas veces visual (grado de hundimiento y tasa de fluidez), los sonidos (asociado con texturas crocantes, crujientes y crepitantes) son también utilizados para evaluar la textura.
- 4) *Nutrición*, comprende macro nutrientes (carbohidratos, grasa y proteína) y micro nutrientes (minerales, vitaminas y fibra).

De acuerdo a las definiciones de textura en los alimentos (Szczesniak, 1963; Bourne, 2002), la textura está relacionada con dos principios fundamentales: estructura física del material, y textura como una percepción de elementos visuales y táctiles del material.

La Organización Internacional de Estandarización (ISO, 1992) define a la textura de productos alimenticios como, todos los atributos reológicos y estructurales (geometría y superficie) del producto, perceptibles por medio de receptores mecánicos, táctiles, visuales y auditivos.

La textura del queso es una característica sensorial y por lo tanto, se mide directamente solo por análisis sensorial. La percepción de textura surge de un complejo orden de aportaciones sensoriales que ocurren previo y durante el consumo del alimento (Fox *et al.*, 2000).

La textura es uno de los más importantes parámetros de calidad que determinan la identidad de un queso y afecta sumamente sus preferencias de consumo (Creamer y Olson, 1982; Antoniou *et al.*, 2000).

Las técnicas de medición de la textura en los alimentos pueden ser agrupadas en dos categorías: subjetivas e instrumentales. Las mediciones subjetivas o de evaluación sensorial son realizadas por un panel entrenado de evaluadores sensoriales (Gunasekaran y Ak, 2003). Por otra parte, en las mediciones instrumentales, Tunick (2000) y Bourne (2002) hacen referencia de tres categorías de mediciones de las propiedades mecánicas de los alimentos, incluyendo a los productos lácteos, éstas son: 1) *pruebas empíricas*; 2) *pruebas imitativas* y 3) *pruebas fundamentales*.

2.8.1 *Pruebas empíricas*, éstas miden parámetros que indica la experiencia y son relacionados con la textura. Las herramientas para medir empíricamente los atributos de textura en el queso son: compresores, penetrómetros y medidores de tensión de la cuajada. Éstos no son considerados instrumentos de precisión debido a las condiciones arbitrarias de prueba y los resultados son difíciles de comparar con resultados obtenidos de experimentos más rigurosos.

2.8.2 *Pruebas imitativas*, las pruebas imitativas están comprendidas dentro de los métodos mecánicos de mayor deformación. Las mediciones de mayor deformación ocurren fuera de la región viscoelástica lineal y caracterizan las propiedades de fractura no lineales del material. Estos métodos prueban al material en compresión/tensión o torsión. Este tipo de métodos se relacionan bien con las propiedades sensoriales como la masticación. Los analizadores de textura (*e.g.* The Stable Micro System TA-XT2 Texture Analyser e Instron Universal Testing Machine) son aparatos que han sido ampliamente utilizados para determinar la textura del queso (Farkye *et al.*, 1995; Antoniu *et al.*, 2000; Hort y Le Grys, 2001; Verdini y Rubiolo, 2002; Piska y Štětina, 2003; Pollard *et al.*, 2003; Madadlou *et al.*, 2006), su software se basa en métodos de mayor deformación del alimento. Las pruebas imitativas más utilizadas en el queso son las de fractura compresión/tensión. Las pruebas de compresión aplican fuerza perpendicular en la superficie del material. La técnica instrumental más popular es el *Análisis de Perfil de Textura (APT)*; APT es una prueba de compresión en la cual la muestra se comprime en dos tiempos imitando la acción que ocurre durante la masticación humana.

2.8.3 *Pruebas Fundamentales*. Las pruebas fundamentales dan información de las propiedades elementales de un material y generalmente suponen: 1) pequeñas deformaciones (1-3 % máximo); 2) el material es continuo, isótropo (exhibe las mismas propiedades físicas en cualquier dirección) y homogéneo; 3) la muestra de prueba es de forma uniforme y regular. Muchas pruebas de textura hechas en alimentos fallan en cumplir con uno o más de los tres supuestos enlistados arriba. Las pruebas fundamentales son generalmente lentas para realizar, no se correlacionan bien con la evaluación sensorial como las pruebas empíricas o imitativas, y utilizan equipos costosos. Las pruebas fundamentales son más sofisticadas ya que en ellas cuenta la geometría de la muestra, el volumen, y las condiciones de prueba. Estas pruebas trascienden la instrumentación y permiten a ingenieros y científicos hablar un lenguaje común con respecto a las propiedades del material.

En el método de perfil de textura, tres categorías de características de textura fueron propuestas por Szczeniack (1963): Características mecánicas, las cuales, se relacionan con la reacción del alimento sometido a esfuerzo; Características geométricas, las cuales, se relacionan con el tamaño, forma y orientación de partículas dentro del alimento; Otras características las cuales, se relacionan a los niveles de percepción de humedad y grasa en los alimentos. Las características mecánicas en turno son divididas dentro de características primarias, tales como firmeza, cohesividad, viscosidad, elasticidad y adhesividad; y características secundarias, tales como fracturabilidad, masticabilidad y gomosidad (Fox *et al.*, 2000).

2.8.4 Análisis de perfil de textura

El desarrollo de técnicas instrumentales tales como el análisis de perfil de textura (APT) ha incrementado el interés de cuantificar la textura (Pollard *et. al.*, 2003).

El principio del APT consiste en tomar una muestra de alimento del tamaño de un bocado, que sea de forma y tamaño estandarizado, la cual, se coloca en el plato base, para comprimirla y disgregarla por una sonda conectada a un “drive” de un sistema, para imitar la acción de los dientes, esto deberá ser a una alta compresión. Los autores usualmente utilizan un 90 % de compresión cuando desarrollan las pruebas de APT. El texturómetro despliega una curva (fuerza vs tiempo) (Figura 2). La altura del pico de fuerza en el primer ciclo de compresión (primera mordida), se define como *firmeza*. En la figura, A es el inicio de la primera compresión, y B es el comienzo de la segunda compresión. La “*fracturabilidad*” (originalmente llamada fragilidad) se define como la fuerza del rompimiento significativo en la curva en la primera mordida (se muestra en la figura como una línea rota). La relación de las áreas de la fuerza positiva bajo la primera y segunda compresión (A_2/A_1), se definen como *cohesividad*. El área de la fuerza negativa de la primera mordida (A_3), representa el trabajo necesario para tirar el embolo de compresión y separarlo de la muestra, y se define como *adhesividad*. La distancia que el alimento recobra de su altura durante el tiempo transcurrido entre el fin de la primera mordida y el comienzo de la segunda mordida (BC), se define como *flexibilidad* (originalmente llamada elasticidad). Otros dos parámetros derivados que pueden determinarse de los parámetros medidos, son: *gomosidad*, la cual se define como el producto de la firmeza por la cohesividad; “*masticabilidad*” y se define como el

producto de la gomosidad por la flexibilidad (el producto de firmeza por cohesividad por flexibilidad) (Bourne, 2002).

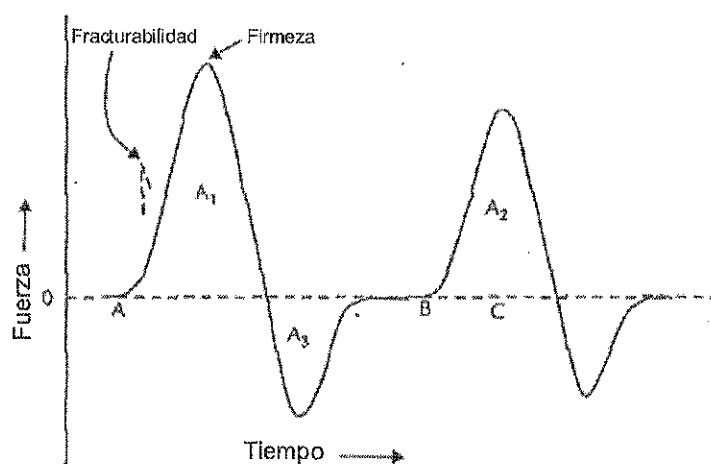


Figura 2 – Grafica típica utilizada para el análisis de perfil de textura. Fuente: Bourne (2002).

Para comprender mejor qué determina la calidad y textura del queso, es necesario tener un entendimiento de los mecanismos físicos y químicos que ocurren durante la elaboración del queso. Generalmente, los componentes y técnicas de procesamiento son básicamente las mismas para todos los quesos, pero la proporción de sus componentes varia.

En general, una reducción en el contenido de grasa en el queso resulta en un incremento en la firmeza y elasticidad, y el incremento en el contenido de humedad produce un efecto opuesto (Tunick *et al.*, 1993). El aumento en el contenido de humedad del queso también hace al queso más adhesivo (Bryant *et al.*, 1995). Durante el almacenamiento los quesos tienden a llegar a ser más suaves y menos elásticos debido al rompimiento proteolítico de la matriz caseica (Tunick *et al.*, 1993).

Durante la elaboración del queso, muchos factores pueden contribuir a la textura final del queso. Estos incluyen a aquellos factores que afectan el contenido de humedad en la cuajada (temperatura de escaldado, afinado de la cuajada, duración del agitado, etc.), acidez y pH. Una temperatura alta de escaldado deja la cuajada elástica, y resulta en un queso gomoso o cauchoso (*e.g.* queso Emmental) (Jack y Paterson, 1992). Una baja acidez debilita los enlaces de proteína a través de cargas de repulsión, cuando las cargas negativas en las moléculas de caseína incrementan con el pH. Las interacciones hidrofóbicas, son importantes para estabilizar la estructura de la matriz caseica, son debilitadas por la absorción de agua vía las proteínas para disolver las cargas iónicas. En quesos con un pH alto, la absorción de agua por las proteínas limita la cantidad de agua en los intersticios de la matriz proteica (Gunasekaran y Ak, 2003).

La humedad, sal y contenido de calcio del queso pueden alterar el efecto del pH en la textura del queso. Está bien establecido que quesos con un más alto contenido de humedad, a un pH y contenido de sal dado, son menos firmes que su contrapartes con un más bajo contenido de humedad. Esto ha sido atribuido a un hinchamiento de las submicelas de caseína con el incremento de la proporción de humedad/caseína. Por consiguiente, cada pequeña variación del contenido de humedad tiene efectos significativos en la textura del queso. (Olson, 1982).

El efecto del contenido de humedad en la elasticidad del queso no es claro, tanto el incremento como el decremento de la elasticidad con el contenido de humedad han sido reportado (Chen *et al.*, 1979; Tunick *et al.*, 1991; Bryant *et al.*, 1995), el contenido de humedad puede ser más importante en el dictado de los atributos texturales del queso, en vez de la naturaleza de la matriz proteica (Bryant *et al.*, 1995).

La textura de muchos quesos cambia casi continuamente después de que es elaborado debido a la acción proteolítica de la enzima residual. El cambio más notable se da con la edad, debido al rompimiento proteolítico de la matriz de proteica, la disminución en la deformación de fractura, la elasticidad y el aumento de cremosidad. De hecho, después de 64 semanas el Queso Cheddar es muy suave, habiendo perdido su integridad estructural debido al extendido de la proteólisis (Hort y Grys, 2001). Lawrence *et al.* (1987), catalogan los siguientes tres factores que tienen un efecto sobre la textura de queso durante el madurado: El pH en el cual, el suero es drenado de la cuajada. Esto determina la proporción de quimosina y plasmina en el queso; La proporción de sal/humedad que controla junto con la temperatura, la actividad de cuajo residual y plasmina en el queso; pH del queso después del salado. El pH de queso ha sido descrito como el factor solo más importante que influye en la textura. Las condiciones de humedad relativa y temperatura de almacenamiento también afectan el desarrollo de textura (Jack y Paterson, 1992).

Los cambios de textura del queso durante el almacenamiento, pueden ser considerados, ocurrir en dos fases (Lawrence *et al.*, 1987): En la fase uno, las dos primeras semanas después de la elaboración, hay un cambio rápido durante el cual, la red de caseína es altamente debilitada cuando un sólo enlace en cerca del 20% de la α_{s1} -caseína es hidrolizado. El péptido resultante α_{s1} -I causa el ablandamiento inicial del queso (Creamer y Olson, 1982). Este péptido está presente en todos los tipos de los quesos, al menos durante las primeras etapas de madurado. En la fase dos, el período subsiguiente a las dos primeras semanas, los cambios proteolíticos son

considerablemente graduales. El grado de cambio textural durante esta fase está basado en la tasa de proteólisis y aumento del pH. Como cada péptido es seccionado, dos nuevos grupos iónicos son generados. Esto reduce la cantidad de agua libre en la matriz, aumentando la solvatación de las cadenas de proteína. Así, como con la edad, el queso Tipo Cheddar endurece, y la matriz proteica se hace menos cohesiva (Lawrence et al., 1987; Jack y Paterson, 1992). Hort y Grys (2001) sugirieron que el cambio de textura del queso Cheddar pudiera ser dividido en tres etapas distintas correspondiente a la clasificación comercial de Queso Cheddar suave, medio, y maduro.

2.9 REOLOGÍA

La reología es definida como la ciencia del flujo y deformación de los materiales, es una ciencia fundamental interdisciplinaria (Steffe, 1996; Rao, 1999; Vélez, 2002). La reología ha sido utilizada regularmente para el estudio de los alimentos. Hay diversas áreas de interés para la ciencia de los alimentos (McKenna y Lyng, 2003; Tabilo y Barbosa, 2004) donde las mediciones reológicas son requeridas:

- Diseño de plantas: Selección de bombas y tamaño de tubos; cálculos de transferencia de calor y masa; diseño de filtros; y otros cálculos de ingeniería de procesos que involucran extractores, mezcladores y homogenizadores.
- Caracterización física de: materias primas previas a su procesamiento, productos intermedios durante el manufacturado y productos finales.

- Control de calidad de: materias primas y productos a diferentes etapas del proceso (incluyendo determinación de ingredientes funcionales en el desarrollo de productos y pruebas de vida de anaquel).
- Evaluación sensorial: mediciones cuantitativas de determinados atributos de calidad para correlacionar las mediciones reológicas con datos sensoriales.
- Evaluación y entendimiento de la estructura del alimento y su conformación molecular.

Los alimentos presentan una gran variedad de estados, generalmente son mezclas donde sus componentes existen como sólidos, líquidos o gases, debido a esto los alimentos son composicional y estructuralmente sistemas complejos. Muchos alimentos pueden simultáneamente exhibir comportamiento como líquido (viscosidad) y como sólido (elasticidad) bajo un amplio rango de condiciones. A los materiales que presentan este tipo de comportamiento se les nombra materiales viscoelásticos. Los alimentos que muestran este tipo de comportamiento reológico por lo regular tienen una matriz sólida más o menos elástica y una fase líquida que aporta un elemento viscoso a la estructura. Cuando un material viscoelástico muestra predominantemente comportamiento como sólido son descritos como viscoelástico sólido (*e.g.* queso) y si el comportamiento que predomina es como líquido son descritos como viscoelástico líquido (*e.g.* yogur para beber) (Aguirre *et al.*, 1989; Steffe, 1996; Aguilera y Lillford 2008). Además, algunos alimentos exhiben un tipo de comportamiento reológico conocido como plasticidad. La plasticidad es la propiedad opuesta a la elasticidad de los cuerpos, que al adquirir determinada forma por efecto de alguna fuerza ejercida sobre ellos, la conservan indefinidamente cuando ésta cesa de obrar (Barnes *et al.*, 1989; Steffe, 1996; Sahin y

Gülüm, 2006). Un material plástico ideal puede ser caracterizado de acuerdo a los modelos de Bingham y Prandtl. El modelo de Bingham explica el comportamiento de un material visco-plástico; mientras que el modelo de Prandtl explica un material elástico-plástico. Ambos explican que, la deformación no es permanente si el esfuerzo aplicado es menor que el esfuerzo cedente, y continua su deformación si el esfuerzo aplicado está dentro del rango del esfuerzo cedente. El esfuerzo es independiente de la deformación o tasa de deformación (Sahim y Gülüm, 2006; Brinson y Brinson, 2008). Los materiales elástico-plásticos tienen comportamiento Hookeano abajo del esfuerzo cedente, pero fluyen para producir deformación permanente por arriba de este valor de esfuerzo (Steffe, 1996). La margarina y la mantequilla a temperatura ambiente pueden comportarse como sustancias elástico-plásticas. Grafica y matemáticamente (figura 3), la deformación plástica puede ser definida de la siguiente forma:

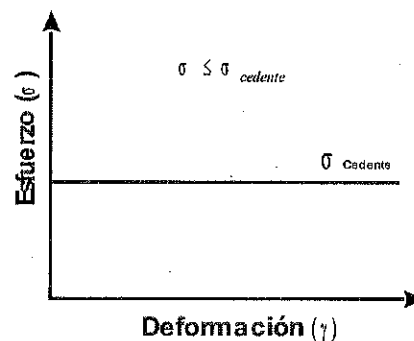


Figura 3. Deformación plástica y esfuerzo cedente.

Para los alimentos que presentan un carácter viscoelástico sólido, las pruebas reológicas se pueden categorizar dentro de tres regímenes (Foegeding *et al.*, 2003) (Figura 4). El primer régimen (I) es la región viscoelástica lineal, donde la relación entre

esfuerzo y deformación es proporcional; el régimen siguiente (II) es el de no linealidad (región viscoelástica no-lineal). El régimen no-lineal es como su nombre implica, una más compleja relación entre esfuerzo y deformación (el esfuerzo incrementa o disminuye no linealmente con la deformación); Finalmente, el último punto ocurre en la fractura (III). Los regímenes I y III han sido bien caracterizados para materiales alimentarios debido a la simplicidad de agrupar e interpretar las mediciones en estas zonas.

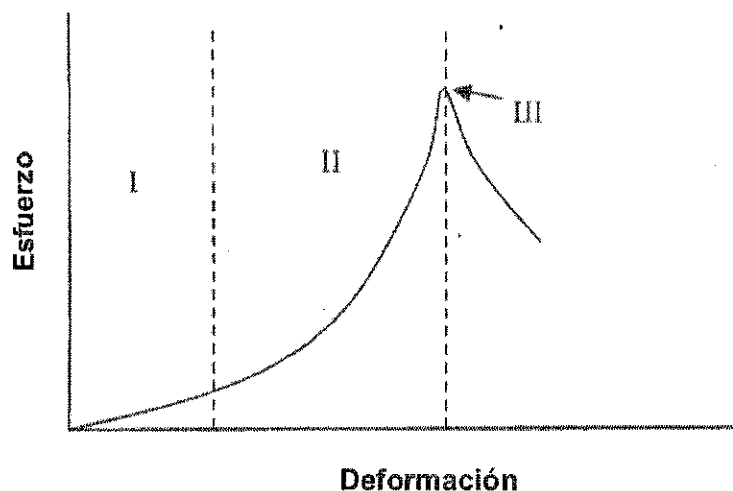


Figura 4 – Regímenes reológicos para alimentos sólidos Viscoelásticos. Fuente: Foegeding *et al.* (2003).

2.9.1 Pruebas reológicas utilizadas en alimentos.

Existen dos categorías de mediciones de las propiedades reológicas de los alimentos: las pruebas fundamentales y las pruebas reológicas empíricas, la diferencia entre los dos métodos es que en contraste con el segundo, el primero considera la magnitud y dirección de la fuerza y deformación, colocando restricciones de aceptación en la forma y composición de la muestra. Las pruebas fundamentales tienen la ventaja de

basar sus principios en conceptos conocidos y ecuaciones físicas. Los métodos empíricos son frecuentemente utilizados cuando la composición o geometría de la muestra son complejos para considerar la fuerza y deformación. Estos métodos son valiosos si correlacionan con una propiedad de interés, mientras las pruebas fundamentales determinan las verdaderas propiedades físicas (Tabilo y Barbosa, 2004).

2.9.1.1 Pruebas reológicas fundamentales

Dentro de las pruebas fundamentales hay dos tipos de pruebas experimentales que son frecuentemente utilizadas por los científicos en alimentos para caracterizar las propiedades viscoelásticas de los alimentos: Mediciones trascendentales (estáticas) y dinámicas (Tunick, 2000).

2.9.1.1.1 Pruebas trascendentales

En un experimento trascendental una fuerza constante es aplicada a un material y la deformación resultante es medida como una función del tiempo, o viceversa. Las principales pruebas trascendentales utilizadas son: pruebas de esfuerzo relajación, en las cuales, una deformación repentina y constante (tal como 0.1%) es aplicada para obtener el módulo de relajación, el cual, representa la relación entre el esfuerzo y la deformación; las otras pruebas son las curvas de esfuerzo-deformación, en las cuales, un esfuerzo repentino y constante es aplicado (produciendo una curva de esfuerzo-deformación) y removido (produciendo una curva de recuperación) y la deformación resultante es medida sobre el tiempo, produciendo el módulo de elasticidad (E) o de compresibilidad (K).

2.9.1.1.2 Pruebas dinámicas de baja amplitud

Las pruebas dinámicas son también denominadas como análisis mecánico dinámico (AMD), éstas pruebas son utilizadas para medir las propiedades mecánicas de los materiales mientras son sometidas a una tensión (o esfuerzo) oscilante. Las pruebas dinámicas de baja amplitud (Small Amplitude Oscillatory Test, SAOS), son un subconjunto del AMD y son utilizadas comúnmente para estudiar la viscoelasticidad del queso y otros alimentos (Gunasekaran y Ak, 2003).

Durante las pruebas SAOS, la respuesta del material es registrada mientras es sometido sinusoidalmente variando el esfuerzo o deformación. Una oscilación sinusoidal tiene una amplitud (nivel máximo de esfuerzo o deformación) y una duración o frecuencia (tiempo para completar un ciclo oscilatorio).

El esfuerzo es definido como fuerza por unidad de área, es generalmente expresado en Pa (N/m^2), y puede ser categorizado dentro de dos grupos: esfuerzo normal y esfuerzo cortante. El esfuerzo normal es definido como la fuerza aplicada perpendicular al plano por unidad de área. El esfuerzo normal puede ser de tensión o compresión dependiendo si éste tiende a estirar o a comprimir el material en el cual actúa (Figura 5a). La presión es un ejemplo de esfuerzo normal. El esfuerzo cortante (σ) es definido como la fuerza aplicada tangente al plano por unidad de área (Figura 5b). En las pruebas SAOS generalmente se aplica esfuerzo cortante.

Donde σ_0 es la amplitud del esfuerzo cortante, ω es la frecuencia (*radianes*), t es el tiempo (*s*), y δ es el ángulo de fase (*grados*). En estas pruebas, el material sujeto a oscilación, almacena energía en su estructura y cuando ya no es capaz de almacenarla, se disipa energía en forma de calor; Para los materiales elásticos, toda la energía mecánica aplicada se almacena durante la deformación y recupera su constitución original (forma y tamaño) después de remover la fuerza externa; un fluido viscoso disipará y perderá toda la energía. La cantidad de energía almacenada es referida como el componente elástico G' (módulo de almacenamiento), y la cantidad de energía pérdida es referida como el componente viscoso G'' (módulo de pérdida). Usando una identidad trigonométrica se puede alternativamente escribir como:

$$\sigma(t) = \sigma_0 [\sin(\omega t) \cos(\delta) + \cos(\omega t) \sin(\delta)]$$

Multiplicando el lado derecho de la ecuación anterior por (γ_0 / γ_0) y usando la siguiente relación.

$$G'(\omega) = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos(\delta)$$

$$G''(\omega) = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin(\delta)$$

La ecuación se puede reescribir como:

$$\sigma(t) = \gamma_0 [G'(\omega) \sin(\omega t) + G''(\omega) \cos(\omega t)]$$

La relación (σ_0/γ_0) es la magnitud del módulo complejo (G^*) y es relacionado al módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdida (G''), por la siguiente expresión:

$$|G^*| = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2}$$

Frecuentemente la respuesta dinámica es expresada en términos de la tangente de pérdida definida como:

$$\tan \delta(\omega) = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)}$$

Si los valores de G' son mucho mayores que los de G'' , el material se comportará más como un sólido; y las deformaciones serán esencialmente elásticas y recuperables. Sin embargo, si los valores de G'' son mucho mayores que los de G' , la energía utilizada para deformar el material es disipada viscosamente y el comportamiento del material es como un líquido (Rao, 1999; Tabilo y Barbosa, 2004). El ángulo de fase (δ) es una medida del grado relativo de viscoelasticidad de un material. Un material idealmente elástico tendrá un ángulo de fase de 0° , mientras que un material idealmente viscoso tendrá un ángulo de fase de 90° , y un material viscoelástico tendrá un ángulo de fase entre 0° y 90° . Un material con un más alto componente de G' se comportará más elásticamente (como sólido), mientras un material con un valor más alto del componente de G'' se comportará más viscoso (como fluido) (Steffe, 1996; Sahin y Güllüm, 2006).

Según Gunasekaran y Ak, 2003; Tabilo y Barbosa, 2004; y Brummer (2006), hay cuatro tipos de pruebas que pueden ser conducidas para obtener propiedades útiles de geles, gelación su fundido: (1) estudios de barridos de frecuencia en los cuales, G' y G''

son determinados como una función de la frecuencia (ω) a una temperatura fija; (2) barridos de temperatura, en los cuales, G' y G'' son determinados como una función de la temperatura a una frecuencia (ω) fija; (3) barridos de tiempo, en los cuales, G' y G'' son determinados como una función del tiempo a una frecuencia (ω) y temperatura fijas; y (4) Barridos de amplitud (o deformación), en los cuales, G' y G'' son determinados como una función del incremento de deformación a una frecuencia (ω) y temperatura fijas. Los barridos de amplitud son también conocidos como prueba de deformación. Esta prueba empieza en una amplitud muy pequeña, y la deformación se incrementa a intervalos pequeños (figura 6), obteniendo como respuesta los módulos de G' y G'' (figura 6) los cuales, presentan curvas paralelas en el rango de frecuencia más bajo. Este rango lineal es también llamado zona viscoelástica lineal. Usualmente, el objetivo de una prueba de barrido de amplitud es para determinar los límites de las propiedades viscoelásticas lineales identificando el punto (o valor) crítico más allá del cual, los módulos dinámicos (G^* , G' y G'') llegan a ser dependientes de la variable de entrada, deformación (zona viscoelástica lineal) (Steffe, 1996; Gunasekaran y Ak, 2003; Brumer, 2006). En otras palabras, son utilizadas para determinar el régimen en donde la relación entre el esfuerzo es proporcional a la deformación (zona viscoelástica lineal) y en donde empieza el régimen de no-proporcionalidad de esta relación (zona viscoelástica no-lineal). Los barridos de amplitud se interpretan como un tipo de pruebas de selección para cada nueva muestra y son el primer paso en el AMD y siempre deben ser realizados antes de una prueba de barrido de frecuencia para especificar el nivel de deformación ésta prueba.

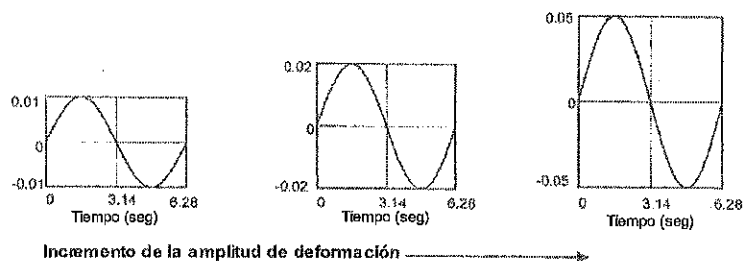


Figura 6 – Esquema del incremento de amplitud en un barrido de amplitud (o deformación) realizado en pruebas oscilatorias. La amplitud de deformación es incrementada a una frecuencia fija seleccionada. Fuente: Gunasekaran y Ak (2000).

El uso de métodos reológicos SAOS ha incrementado considerablemente con el desarrollo de reómetros comerciales, las mediciones dinámicas realizadas en estos instrumentos son bajo condiciones oscilatorias de baja amplitud, donde discos de la muestra son colocados entre dos platos paralelos y sometido a oscilación sinusoidal. Los experimentos deben ser conducidos en el régimen viscoelástico lineal (régimen I, figura 4) donde el esfuerzo es proporcional a la deformación para mantener la estructura de la muestra intacta. Los resultados son muy sensibles a la composición química y estructura física, así que ellos utilizan parámetros reológicos para correlacionar la estructura y composición química de la muestra. Los investigadores en alimentos han encontrado que los instrumentos de pruebas oscilatorias son herramientas particularmente valiosas para el desarrollo de productos (Steffe, 1996).

2.9.2 Determinación de la región viscoelástica lineal

Materiales tales como los alimentos exhiben comportamiento viscoelástico, el cual está relacionado directamente a la estructura molecular y diferencia de formulación. Como se mencionó anteriormente, para evaluar de forma precisa la relación entre la estructura molecular y el comportamiento viscoelástico se requiere que los experimentos tales como las mediciones reológicas sean conducidos en la región donde las propiedades viscoelásticas observadas sean independientes de los niveles de esfuerzo o deformación impuestos. Estos experimentos deben ser conducidos en la zona viscoelástica lineal.

La reología de esfuerzo controlado provee dos técnicas para determinar la región viscoelástica de polímeros. Estas son: las pruebas de curvas esfuerzo-deformación y las pruebas por oscilatoria a baja amplitud (SAOS-barrido de amplitud). En las pruebas de curvas esfuerzo-deformación, un esfuerzo constante es aplicado al material, y la deformación resultante es monitoreada con el tiempo. En la propuesta de las pruebas SAOS se incrementa el nivel cíclico del esfuerzo y deformación aplicando una frecuencia constante (Tunik, 2000). El punto en el cual, la función viscoelástica dinámica (G^* o η^*) se desvía por más del 10% del valor constante (meseta), indica la desviación del comportamiento viscoelástico lineal (TA Instruments, 2008) (figura 7).

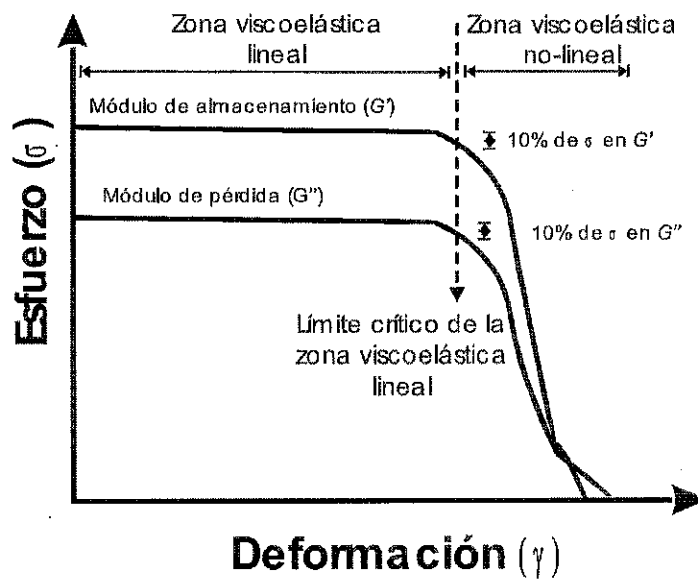


Figura 7. Grafica típica de un barrido de amplitud (o deformación) en donde se conforman las curvas de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G''). Además, se muestra el punto de inflexión (límite crítico de la zona viscoelástica lineal).

Según explican Gunasekaran y Ak (2000), las investigaciones empleando métodos SAOS deben empezar con una determinación de los límites de esfuerzo o deformación, para lo cual la teoría viscoelástica lineal es aplicable. Para ello, la prueba de barrido de amplitud o esfuerzo debe ser realizada a una frecuencia baja (*e.g.* 1 Hz), para incrementar la amplitud del esfuerzo/deformación impuesto; Una vez que el límite viscoelástico es determinado, se puede proceder con experimentos más versátiles (*e.g.* barridos de frecuencia), realizados a una deformación (o esfuerzo) dentro del límite viscoelástico lineal. Los barridos de frecuencia son altamente recomendables para caracterizar el comportamiento viscoelástico del material. La grafica resultante de éstas pruebas son conocidas como “espectro mecánico” (Gunasekaran y Ak, 2003). La amplitud de deformación para realizar los barridos de frecuencia debe ser seleccionada

con cuidado, bajo todas las condiciones y debe ser menor que el límite de deformación de la viscoelasticidad lineal (Gunasekaran y Ak, 2003).

Gunasekaran y Ak (2003) hacen una compilación de los valores críticos de la zona viscoelástica lineal de varios quesos (Cuadro 1); En esta compilación es evidente que para la mayoría de los quesos los límites de deformación viscoelástica lineal son de 1% o menores. Sin embargo, mencionan que la excepción es el queso Gouda de Luyten *et al.* (1991), con 3 – 5%. Según ellos, ésta tabla sólo sirve como una guía y no elimina la necesidad de determinar la zona viscoelástica lineal. Ésta compilación fue de varias pruebas realizadas bajo diferentes condiciones e instrumentos. Cabe destacar que en ésta compilación se muestran quesos de pasta semidura como el Cheddar cuyo valor crítico del límite viscoelástico lineal es de 0.55 %, por el contrario, el queso Gouda (queso semiduro de pasta lavada) es mayor el valor crítico (1%). Sin embargo, también se muestran valores para el queso Mozzarella con valores 0.5 y 1%. El queso Mozzarella es un queso de pasta filada que durante su elaboración lleva un proceso de lavado con agua caliente que a su vez cuece la cuajada para su texturización. En dicho proceso, y de manera parecida al proceso de lavado del queso Gouda, se pierden componentes solubles (lactosa, ácido láctico, proteína soluble y sales minerales) siendo el calcio uno de los más importantes componentes que determinan la estructura del queso, por lo que no es claro, porque se da esta variación en el valor crítico de la zona viscoelástica lineal. Por lo tanto, es necesario hacer un estudio para determinar como la operación de lavado de la cuajada afecta los valores críticos de la zona viscoelástica lineal del queso tipo Manchego mexicano y su comportamiento del mismo durante su vida de anaquel.

Cuadro 1. Límites críticos de deformación de la zona viscoelástica lineal de varios quesos

Queso	Deformación crítica (%) [†]	Referencia
Cheddar	0.55	Nohan <i>et al.</i> , 1989
Tipo Cheddar	0.6	Guinee <i>et al.</i> , 2000
Cuajada de queso	0.1–0.3	Ramkumar <i>et al.</i> , 1998
Feta	<1	Wium y Qvist, 1997
Gouda	1	Dewettinck <i>et al.</i> , 1999
Gouda	1	Messens <i>et al.</i> , 2000
Gouda	3–5	Luyten, <i>et al.</i> , 1991
Imitación	1	Mounsey y O’Riordan, 1999
Mozzarella	1	Hsieh <i>et al.</i> , 1993
Mozzarella	0.5	Nolan <i>et al.</i> , 1989
Mozzarella	0.5	Aky Gunasekaran, 1996
Mozzarella	0.05–1	Subramanian y Gunasekaran, 1997
Mozzarella	0.5	Diefes <i>et al.</i> , 1993
Mozzarella	1	Yun <i>et al.</i> , 1994
Procesado	0.35–0.7	Sutheerawattananonda y Bastian, 1998
Procesado	0.7	Nolan <i>et al.</i> , 1989
Quarg	1	Kelly y O’Donnell, 1998
Distintos quesos	0.4	Drake <i>et al.</i> , 1999

[†]En algunas ocasiones, el valor dado en esta columna representa la deformación actualmente usada en el experimento o mejor dicho el límite viscoelástico lineal.

Fuente: Gunasekaran y Ak, 2003

Subramanian y Gunasekaran (1997a) investigaron cambios en la región viscoelástica lineal del queso Mozzarella debido a cambios con respecto al tiempo y temperatura de almacenamiento. Ellos encontraron que el límite de deformación disminuyó con el incremento de la temperatura y tiempo de afinado; Ellos conjeturaron que esto fue debido a la proteólisis y ablandamiento termal sobre el tiempo, el cual, resultó en la disminución de la viscosidad y elasticidad del material.

Tunick *et al.* (1990) conjeturaron que en las graficas resultantes de los barridos de amplitud de quesos semiduros (Cheddar y Chesire), la inflexión presentada es debida a la ruptura del cuerpo del queso y que la cantidad de esfuerzo que el queso puede soportar antes de la falla, es señalado por el cambio del punto de inflexión. Además, si la deformación excede la región viscoelástica lineal, la ruptura de enlaces y su reформación

a tasas diferentes, depende de la estructura de la red proteica dentro del queso, así que ellos exhiben diferentes valores de G' .

Cuando un polímero es sometido a esfuerzo y la carga origina un deslizamiento molecular en el material produciendo una deformación inelástica, ésta es denominada deformación plástica o permanente (Mitchell, 2004). Como se menciono anteriormente, el lavado de la cuajada en la hechura de los quesos Colby y Monterey Jack propicia que presenten una textura plástica (Lawrence *et al.*, 1993). Es bien conocido que el agua puede actuar como plastificante y modificar ciertas propiedades (*e.g.* transición cristalina) de polímeros alimenticios (Noel *et al.*, 1990; Slade y Levine, 1995). Sin embargo, el principal efecto como plastificante es reducir la rigidez de polímeros. Anteriormente, se mencionó que el lavado de la cuajada propicia un mayor contenido de humedad en el queso y según Fox *et al.* (2000), la humedad en el queso actúa como plastificante en la matriz proteica. Por lo tanto, y de acuerdo a lo arriba mencionado podemos suponer que el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada presentará una deformación menos elástica y más plástica cuando es sometido a esfuerzo cortante y este tipo de deformación puede mostrar diferencias entre las dos versiones de quesos tipo Manchego mexicano (pasta lavada y “normal”). Así que, los barridos de amplitud de las pruebas SAOS pueden ser una herramienta útil para determinar la deformación plástica, la cual, podrá mostrar un mayor límite crítico de deformación, representado por un punto de inflexión mayor en las graficas de esfuerzo/deformación.

2.9.3 Propiedades reológicas del queso

El queso es un material viscoelástico en el que se exhiben propiedades como sólido y como fluido (Brown *et al.*, 2003). El comportamiento reológico del queso es la viscoelasticidad (Gunasekaran y Ak, 2003). La viscoelasticidad del queso resulta de la contribución reológica interactiva de sus componentes individuales. La estructura representa el camino en el cual, los constituyentes individuales coexisten y la naturaleza física de sus componentes son su mayor determinativo. El comportamiento viscoelástico del queso principalmente se dicta por las propiedades del componente principal formado por la red continua, que es la red de proteína. Los otros componentes principales son la grasa y humedad, los cuales, contribuyen al comportamiento total para modificar las propiedades de la matriz proteica. Hay desde luego, otros factores (*e.g.* proteólisis, temperatura, pH, contenido de sal) que influyen enormemente el comportamiento viscoelástico lineal del queso (Gunasekaran y Ak, 2003).

Los quesos naturales son esencialmente una matriz de fosfo-paracaseinato de calcio compuesta de cadenas traslapadas e interconectadas de agregados de paracaseína parcialmente fusionados que ocuyen grasa y humedad (Fox y McSweeney, 2003). La reología del queso es una función de efectos combinados de varios factores, incluyendo su composición, microestructura (*e.g.* el arreglo espacial de sus componentes y la fuerza de atracción entre elementos estructurales), estado fisicoquímico de sus componentes (*e.g.* grado de hidrólisis de la caseína), y su macroestructura, la cual, refleja la presencia de heterogeneidad como las uniones, grietas y fisuras en los gránulos fusionados de cuajada (Fox *et al.*, 2000). Las propiedades reológicas del queso son aquellas que

determinan su respuesta a esfuerzo o deformación que es aplicado durante el procesamiento y consumo. Estas propiedades incluyen características intrínsecas, tales como: elasticidad, viscosidad y viscoelasticidad, que están relacionadas principalmente a la composición, estructura y fuerza de atracción entre los elementos estructurales del queso (Fox *et al.*, 2000).

La concentración y el tipo de proteína tienen una influencia mayor en las propiedades reológicas, confirmado por su correlación positiva entre la fracción de la matriz proteica y la firmeza ($\sigma_{\max}$) del queso (Guinee *et al.*, 2000). Bajo la aplicación de esfuerzo en el queso, el primer límite de deformación será la matriz proteica. Cuando la concentración de caseína en la matriz proteica del queso incrementa, los enlaces intra e intermoleculares llegan a ser más numerosos y la matriz despliega mayor elasticidad y será más difícil de deformar (Fox *et al.*, 2000). De ahí que, el queso Cheddar reducido en grasa, el cual, tiene una alta fracción de matriz caseica relativo al queso Cheddar entero en grasa sea más firme y presente un mayor valor de esfuerzo cortante (σ) (Fenelon y Guinee, 2000).

La contribución de la grasa en las propiedades reológicas del queso depende de su estado físico, y por lo tanto, de la temperatura, la cual, controla la proporción de grasa sólida y líquida. A una temperatura baja ($< 5^{\circ}\text{C}$) donde la grasa de la leche es predominantemente sólida, contribuye a la elasticidad de la matriz caseica. Los glóbulos grasos sólidos limitan la deformación de la matriz caseica, cuando la deformación de esta también requiere deformación del glóbulo de grasa atrapado dentro de sus poros. Cuando la proporción de grasa líquida incrementa, la grasa se comporta más como un

fluido y confiere viscosidad más que elasticidad o rigidez en el queso. De esta manera, la grasa líquida actúa como un lubricante en la superficie de fractura de la matriz caseica, y por lo tanto, reduce el esfuerzo requerido para la fractura de la matriz. Por ello, para un contenido de grasa dado, incrementando la temperatura de prueba durante la compresión, resulta en un marcado decremento en el módulo elástico, esfuerzo de fractura y firmeza. Un incremento en el nivel de grasa en la materia seca del queso es correspondido por un decremento en el esfuerzo con el efecto de llegar a ser más pronunciado cuando la temperatura es incrementada. Generalmente, un incremento en el contenido graso del queso se acompaña por la disminución del nivel de proteína y humedad, tan bien como la disminución en el esfuerzo y firmeza (Fox *et al.*, 2000). No hay evidencias que el lavado de la cuajada disminuya o modifique el contenido o estado físico de la grasa en el queso, por lo que podemos suponer que las propiedades reológicas del queso tipo Manchego mexicano no serán afectadas por su contenido de grasa.

El tercer mayor componente del queso es la humedad, la cual, actúa como un plastificante en la matriz proteica, de esta manera, haciendo ésta menos elástica y más susceptible a la fractura bajo compresión (Fox *et al.*, 2000). Por lo tanto, el incremento en el contenido de humedad resulta en el decremento del esfuerzo y firmeza. La deformación incrementa significativamente con el contenido de humedad a una magnitud dependiente del pH y maduración del queso (Creamer y Olson, 1982), de ahí que, el incremento del contenido de humedad en quesos tipo holandés (Gouda) de 40 a 60% (p/p) resulte en una marcada reducción en el esfuerzo ($\sigma_{\max}$) (Luyten, 1988). Similarmente, Watkinson *et al.* (2002) reportó que un incremento en el contenido de

humedad de quesos tipo Cheddar modelo, de 40 a 48% (p/p), resultó en una alta disminución en el esfuerzo normal, y grado de resquebrajamiento en la fractura y un mayor incremento en el valor de deformación y adhesividad. Creamer y Olson (1982), reportaron una disminución lineal en el esfuerzo, cuando el contenido de humedad fue incrementado de 34.0 a 39.7% (p/p), el esfuerzo en el nivel más bajo de humedad fue casi dos veces más alto comparado con el nivel más alto de humedad. La operación de lavado de la cuajada incrementa el contenido de humedad en el queso, por lo tanto, conjeturando con lo antes planteado, se supone que el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada presentara valores de esfuerzo cortante menores comparados con la su versión “normal”, pero falta experimentar si el nivel de sustitución de suero-agua tiene una relación con la fracción del contenido de humedad y si éste tiene relación con el esfuerzo, también comprobar si el lapso de permanencia en contacto de la mezcla suero-agua del lavado influye en sus propiedades reológicas.

Es bien conocido que, las concentraciones de calcio y fosfato en forma insoluble son importantes en la modulación de la estructura, textura, y funcionalidad del queso (Lucey y Fox, 1993). La presencia de calcio dirige a fuertes interacciones proteína-proteína dentro de la matriz del queso, y vía sinéresis dirige a la exclusión de humedad de la matriz del queso durante la hechura del queso. Lucey *et al.* (2005), reportaron que varios parámetros reológicos [*e.g.* módulo de almacenamiento (G') y tangente de pérdida máximo ($\tan \delta_{\max}$)] fueron más altamente correlacionados con el nivel de calcio insoluble que con el calcio soluble extendido de la proteólisis primaria durante el madurado. O'Mahony *et al.* (2005) reportaron que la firmeza del queso Cheddar durante las primeras etapas del madurado (1 a 21 días) fue más altamente correlacionada con la

concentración de calcio insoluble. Durante la maduración del queso Cheddar incrementa G' a temperaturas bajas (10 a 20°C), posiblemente debido a un mayor hinchamiento de la matriz cuando las interacciones hidrofóbicas son débiles (Lucey *et al.*, 2005). El efecto de hinchamiento resulta en un incremento del área de contacto entre partículas de caseína, la cual se cree es responsable del incremento en G' a 20 °C con disminución de fosfato de calcio coloidal (O'Mahony *et al.*, 2006). La reducción de calcio y la consecuentemente reducción interacciones proteína-proteína, aparentemente, incrementan la hidratación de la caseína y más suero queda atrapado dentro de la matriz (McMahon *et al.*, 2005). Guinee *et al.* (2002), Joshi *et al.* (2004) y McMahon *et al.* (2005), observaron en sus respectivos estudios, que la reducción del contenido de calcio en el queso Mozzarella dirige a una matriz proteica más hidratada. El lavado de la cuajada disminuye sales minerales, entre ellas calcio y fosfato, que consecuentemente incrementan el nivel de hidratación de la matriz proteica del queso. Supondremos que los valores del módulo de almacenamiento (G') serán menores en quesos tipo Manchego de pasta lavada en comparación con su versión "normal".

Otro factor importante que influye en las propiedades mecánicas del queso es el pH. Pequeñas diferencias el pH del queso pueden tener relativamente grandes efectos en sus propiedades reológicas las cuales en turno pueden afectar parámetros de textura (friabilidad, blandura, adhesividad, etc.) que son importantes en la determinación de su idoneidad como ingrediente (Guinee y Kilcawley, 2004). Creamer y Olson (1982) estudiaron el efecto del pH del queso (4.9, 5.15 y 5.4) en cambios de esfuerzo y deformación relacionados con el madurado de quesos Cheddar. El esfuerzo cambio disminuyó ligeramente cuando el pH fue incrementado de 4.9 a 5.15, pero el incremento

fue notable a un pH de 5.4. Una tendencia similar fue observada para quesos modelo tipo Gouda en los cuales, un incremento del pH de 5.0 a 5.2 condujo a una pequeña reducción del esfuerzo y un marcado incremento de deformación (Luyten, 1988). Sin embargo, el incremento del pH de 5.2 a 5.6 dirige a un marcado incremento en el esfuerzo. El efecto del pH probablemente resulta de su influencia en la proporción de calcio coloidal a soluble (Guinee *et al.*, 2000) calcio total donde el pH es variado para reducir el pH del suero drenado (Lawrence *et al.*, 1984) y consecuentemente, el grado de hidratación o agregación de la matriz para-caseica (Creamer, 1985). El efecto del pH en la cuajada lavada sobre todo en la capacidad reguladora de pH no es claro, sales minerales solubles de la leche pueden ser parcialmente removidas reduciendo la capacidad reguladora de pH, pero por otro lado, el lavado también tiende a elevar el pH de la cuajada por la remoción de lactosa y ácido láctico debido al reemplazo de suero por agua, disminuyendo la posibilidad de acidificación posterior.

La proteólisis fomenta el debilitamiento de la matriz caseica y reduce el esfuerzo requerido para causar deformación (Creamer y Olson, 1982). Por ello, el esfuerzo y la firmeza del queso generalmente disminuyen con el tiempo de madurado. Rosenberg *et al.* (1995) estudiaron las propiedades viscoelásticas lineales del queso Cheddar de leche pasteurizada y cruda durante el madurado usando pruebas SAOS. El queso Cheddar elaborado con leche pasteurizada y con 470 días de madurado presentó más altos valores de G' en comparación con el mismo queso pero con un tiempo de afinado de 240 días. Por el contrario, los quesos Cheddar de leche cruda mostraron una tendencia opuesta donde los valores de G' disminuyeron con el tiempo de madurado. Estos autores atribuyen la disparidad de la tendencia de los valores de G' a los perfiles de péptidos

entre los quesos elaborados de leche pasteurizada y cruda. Luyten *et al.* (1991), condujeron un estudio reológico en la maduración del queso Gouda, incluyendo pruebas dinámicas. Los valores de $\tan \delta$ del queso Gouda a diferentes etapas de maduración varió entre 0.3 y 0.4 para frecuencias que van desde 0.005 y 0.05 Hz. Esto indica un fuerte carácter sólido viscoelástico del queso. Además la tangente de pérdida es más alta a baja frecuencia, mostrando que la efectiva adhesión del queso Gouda tiene un carácter más viscoso a una más baja escala de tiempo. Subramanian y Gunasekaran (1997b) investigaron las propiedades viscoelásticas dinámicas del queso Mozzarella. Ellos encontraron que el componente elástico contribuyó más con la naturaleza viscoelástica total del queso. Además, sus resultados mostraron que tanto el módulo de almacenamiento (G') como el de pérdida (G'') disminuyeron con el tiempo de almacenamiento, también atribuido a la proteólisis. La pérdida de integridad de la matriz proteica. La disminución del tamaño de las partículas dispersas ocurre debido que los productos caseicos son solubles al agua y no pueden contribuir con la red proteica causando que la viscosidad y elasticidad disminuyan. Como se menciono con anterioridad el proceso de lavado incrementa la tasa de proteólisis en el queso, por lo que se puede suponer que el queso tipo Manchego de pasta lavada presente una tasa mayor de ablandamiento que el queso tipo Manchego “normal” (sin lavado), además, también podemos suponer que los valores de G' disminuirán a una tasa mayor con el tiempo de afinado de las muestras de pasta lavada y se puede esperar una tendencia contraria en la versión “normal”.

2.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE MEDICIONES REPETIDAS

El termino mediciones repetidas en general, se refiere a los datos en los cuales, la respuesta de cada unidad experimental o sujeto es observado en múltiples ocasiones o bajo múltiples condiciones. El termino mediciones repetidas también se usa para describir una colección de datos sobre un periodo de tiempo, frecuentemente bajo condiciones experimentales. Investigaciones en muchas áreas de aplicación frecuentemente involucran diseños experimentales en los cuales, las mediciones repetidas son obtenidas. Estudios en los cuales, la variable respuesta se mide en múltiples puntos a lo largo del tiempo para cada sujeto, son aplicaciones importantes y comúnmente utilizadas (Davis, 2002). Los investigadores del área agropecuaria frecuentemente conducen experimentos que involucran datos en cada una de las unidades experimentales (*e.g.* plantas, animales, tubos de ensayo), bajo diferentes estímulos o tratamientos (*e.g.* fertilizantes, dietas, drogas), cuyo efecto se mide a través del tiempo (*e.g.* días, meses) (Gutiérrez y Manrique, 1996).

Los experimentos de mediciones repetidas son un tipo de experimento factorial en donde el tratamiento y tiempo se toman como dos factores. Los objetivos del análisis de datos con mediciones repetidas son examinar y comparar la tendencia de la respuesta con respecto del tiempo. Esto puede involucrar comparación de tratamientos a un tiempo específico o promedio sobre el tiempo. Esto también puede involucrar comparaciones de tiempo dentro de un tratamiento. Estos son objetivos comunes en un experimento factorial (Littel *et al.*, 1997).

Tradicionalmente PROC GLM de SAS se utiliza para dirigir una propuesta univariada o multivariada de análisis de varianza de mediciones repetidas. Los experimentos con mediciones repetidas son un tipo de experimento factorial que considera al tiempo como otro factor. Por lo que las pruebas de hipótesis son: 1) efectos principales intra-unidades experimentales (UE); 2) efectos principales entre-UE; 3) efectos de interacción entre-UE; 4) Efectos de interacción intra-UE entre-UE. La figura 7, representa la estrategia tradicional de mediciones repetidas implementada en PROC GLM. El primer supuesto que contempla el análisis con PROC GLM es que este requiere que los datos sean balanceados intra-UE, y que este no use ningún dato de UE que tengan datos perdidos. Después de identificar que los datos de las UE están completos, es necesario seleccionar un modelo de trabajo en términos de efectos arreglados entre-UE e intra-UE. Los efectos entre-unidades UE son aquellos en los cuales los niveles permanecen constantes entre UE, mientras que los efectos intra-UE cambian entre UE; Continuando en la figura (10) PROC GLM elabora una prueba de significancia estándar para los efectos entre-UE. Sin embargo, dos tipos diferentes de pruebas están disponibles para los efectos intra-UE: univariado y multivariado. La prueba univariada es apropiada cuando la matriz de varianza-covarianza de las observaciones tiene una cierta estructura conocida como “Tipo H” (Huynh y Feldt 1970). PROC GLM elabora una prueba estadística de esta estructura conocida como *prueba de esfericidad*. Cuando la prueba de esfericidad no tiene un valor de probabilidad significativo, se deberá utilizar la prueba univariada para efectos intra-UE porque bajo el supuesto de “Tipo H”, ellos usualmente serán más poderosos que la prueba multivariada. Cuando la prueba de esfericidad es significativa, PROC GLM ofrece dos caminos para la prueba de significancia de efectos intra-UE. El primer camino es para ajustar las pruebas

univariadas por si mismas, y GLM despliega dos ajustes: G-G (Greenhouse y Geisser 1959), y el menos conservador H-F (Huynh y Feldt 1976). El segundo camino involucra cuatro diferentes pruebas multivariadas: Wilks' Lambda, Pillai's Trace, Hoteilling-Lawley Trace, y Roy's Greatest Root (SAS Institute Inc., 1989) Estas pruebas están totalmente basadas en una matriz completamente común (desarreglada) de varianza-covarianza intra-UE. Finalmente las inferencias en los efectos arreglados proveen respuestas a las interrogantes investigadas a través de hipótesis lineal.

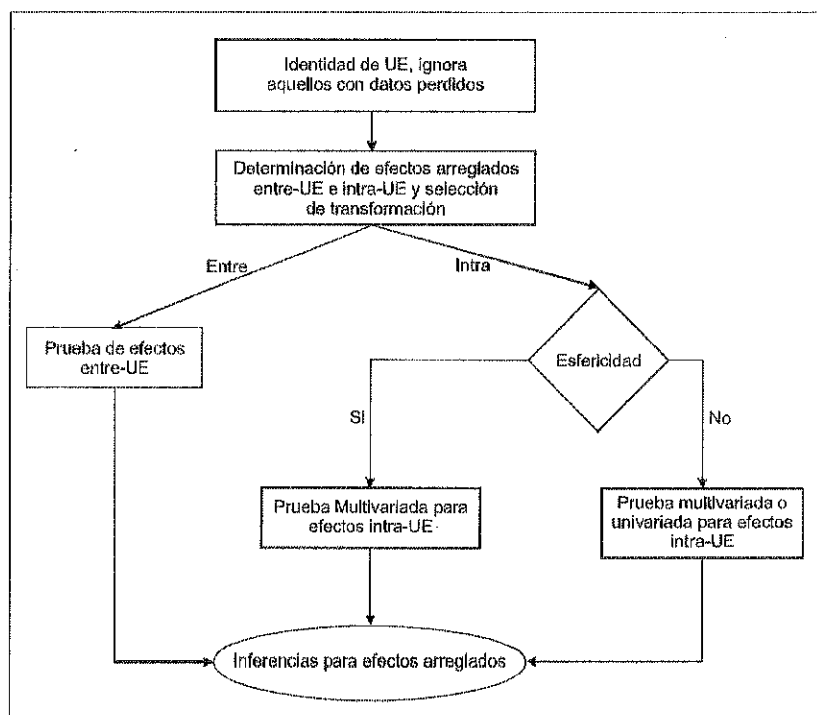


Figura 8. Análisis de mediciones repetidas con PROC GLM (UE = Unidad experimental).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ELABORACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL QUESO.

Tres repeticiones de las siguientes seis diferentes clases de queso tipo manchego mexicano (cuadro 2) se elaboraron en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial (DIA), Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Se empleó la metodología de producción (Anexo 1) propuesta por Villegas (1993), en sus dos versiones “normal” y pasta lavada, con pequeñas modificaciones en cuanto a la masa sustituida de suero por agua, y tiempo de trabajo del grano (permanencia en contacto suero o suero-agua, con la cuajada con cocimiento).

Cuadro 2. Tratamientos de queso tipo Manchego mexicano.

Tratamiento	Clave	Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada, en cocimiento. (minutos)	Nivel de sustitución Suero agua (%)
1	S0P20	20	0
2	S25P20	20	25
3	S50P20	20	50
4	S0P40	40	0
5	S25P40	40	25
6	S50P40	40	50

Las seis diferentes clases de queso tipo manchego mexicano se prepararon con 90 kg de leche fresca de la ordeña de la mañana, provista por la Unidad de Tecnología Lechera (UTL- UACH) la cual, se estandarizó a 3.0% materia grasa (MG) y 9.0% sólidos no grasos (SNG), con el fin de disminuir la variabilidad que presenta la leche fresca, incluso de un día para otro; los quesos de una repetición se elaboraron el mismo día. La leche se pasteurizó a 63 °C por 30 min. Posteriormente, se dividió en 6 partes

iguales (15 kg) y se depositó cada porción en recipientes de acero inoxidable con baño María, para su manejo individual del proceso de elaboración de cada clase de queso. Se emplearon cultivos mesófilos de inoculación directa marca EZAL-Danisco clave MA011 (Francia), conteniendo cepas de *Lactococcus lactis ssp lactis* y *Lactococcus lactis ssp cremoris*. También, se empleó cuajo de fuerza 1:10,000, marca CUAMEX (Chr. Hansen de México S. A. de C. V.). No se empleo cloruro de calcio para no alterar la concentración total final de calcio natural de la leche. Para el lavado de la pasta se utilizó agua purificada Electropura, templada (35 °C). El salado de los quesos se hizo directamente en la pasta después del desuerado.

De cada recipiente se obtuvieron cinco piezas de queso (~300 g), el conjunto de piezas constituyó la unidad experimental por clase. Los quesos se prensaron por 12 horas y se orearon ~24 horas, subsiguientemente se envasaron al vacío y se almacenaron en cuarto frío (11 °C $\pm$ 2); se tomó una pieza de cada clase para su análisis y observación a los siguientes lapsos 7, 15, 30 y 60 días, este último, estimado como fin de vida de anaquel del producto elaborado con leche pasteurizada sin conservadores.

El día de cada lapso se observaron sus características reológicas y de textura, además se analizó su pH, actividad de agua y se extrajo la fracción de nitrógeno soluble en ATCA 12 %, la cual, ulteriormente se depositó en frascos con tapa hermética y congelada -18 °C $\pm$ 2, para que al final del periodo se analizaran por el método micro-Kjeldahl.

3.2 ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS

Los análisis químicos proximales de humedad, materia seca, proteína, grasa, cenizas, calcio, fósforo, y cloruro de sodio, se realizaron con quesos congelados y almacenados en bolsas de cierre hermético (marca Ziploc, México) después de dos meses de elaborados (excepto grasa: ocho días después de su elaboración). La humedad y materia seca se analizó de forma gravimétrica por secado de ~2 g de queso en estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, por 24 horas (Fick *et al.*, 1979). La proteína total se determinó por la medición del nitrógeno total en el queso usando el método micro-Kjeldahl (A.O.A.C. 1980) y se convirtió a proteína usando el factor de conversión 6.38 (IDF, 2006). El contenido de grasa se determinó por el método Gerber Van-Gulik. Cenizas en el queso por incineración en mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ por cinco horas (Fick *et al.*, 1979). El contenido de calcio total se midió usando espectroscopia de absorción atómica (espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 4000, E. U. A.), procedimiento adaptado de Fick *et al.* (1979). El contenido de fósforo total se cuantificó por medio de espectroscopia UV-Vis (espectro U/V /Vis Perkin Elmer Lambda 2, E. U. A.) a una longitud de onda de 660 nm, procedimiento adaptado de Fick *et al.* (1979). El contenido de cloruro de sodio en el queso se determinó mediante el contenido total de sodio por espectroscopía de absorción atómica (espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 4000, E. U. A.) mediante el procedimiento adaptado de Fick *et al.* (1979); posteriormente se calculó el porcentaje de NaCl mediante estequiometría.

La determinación de pH y a_w se hizo a los lapsos de 7, 15, 30 y 60 días. El pH se midió con potenciómetro portátil (Hanna Instruments, Italia) con electrodo de punta cónica para penetración en productos semisólidos. La actividad de agua se midió con medidor de actividad de agua "Aqualab" (Decagon Devices Inc., E. U. A.) basado en tecnología de punto de condensación en espejo-congelado.

3.3 DETERMINACIÓN DE PROTEÓLISIS EN EL QUESO

El nitrógeno total soluble en ácido tricloroacético (ATCA) al 12% se realizó según el método propuesto por Bynum y Barbano (1984) con algunas adaptaciones, el procedimiento fue el siguiente: el extracto en ATCA de cada queso (por duplicado) se obtuvo de 1.5 g de queso rallado y mezclado con 25 mL de ATCA 12% por 30 s en un mortero; y esta mezcla filtrada en papel filtro Whatman # 42 (Whatman International Ltd, E. U. A.); posteriormente, el mortero se enjuagó con 20 mL de ATCA 12% y después, el enjuague se adicionó al filtro. El filtrado se almacenó en frascos de vidrio con tapa hermética y congelados $-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Después de ~2 meses de congelados, se descongelaron a temperatura de cámara frigorífica $11\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$; después se agitaron vigorosamente y se aforaron a 50 mL con solución de ATCA 12% y se transfirieron 10 mL de cada frasco a matraz de bola para micro-Kjeldhal para la cuantificación del nitrógeno total del extracto por este método.

Para el cálculo del porcentaje de proteína, se siguió el método micro-Kjeldhal. El cálculo fue el siguiente:

$$\%P\ Sol\ ATCA = G \times N \times 14.007 \times 6.38 \times F$$

Donde: *%P Sol ATCA* es el porcentaje de proteína soluble en ácido tricloroacético; *G* es el gasto de solución de ácido clorhídrico utilizado en la titulación de la muestra; *N* es la normalidad de la solución de ácido clorhídrico que es utilizado para la titulación; *F* es el factor de dilución, el factor utilizado para una muestra de 10 mL fue 0.333.

Para determinar el valor de los índices de maduración se empleó la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de maduración} = \frac{\% P \text{ Sol ATCA}}{\% P \text{ total}}$$

Donde *% P Sol ATCA* es el porcentaje de proteína soluble en ácido tricloroacético y *% P total* es el porcentaje de proteína total del queso.

3.4 ANÁLISIS DE TEXTURA

3.4.1 Muestreo del queso para APT

Los quesos almacenados a $11\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ se transportaron en hielera al laboratorio y templados a temperatura ambiente para el análisis de perfil de textura. El muestreo del queso se hizo conforme a la figura 9.

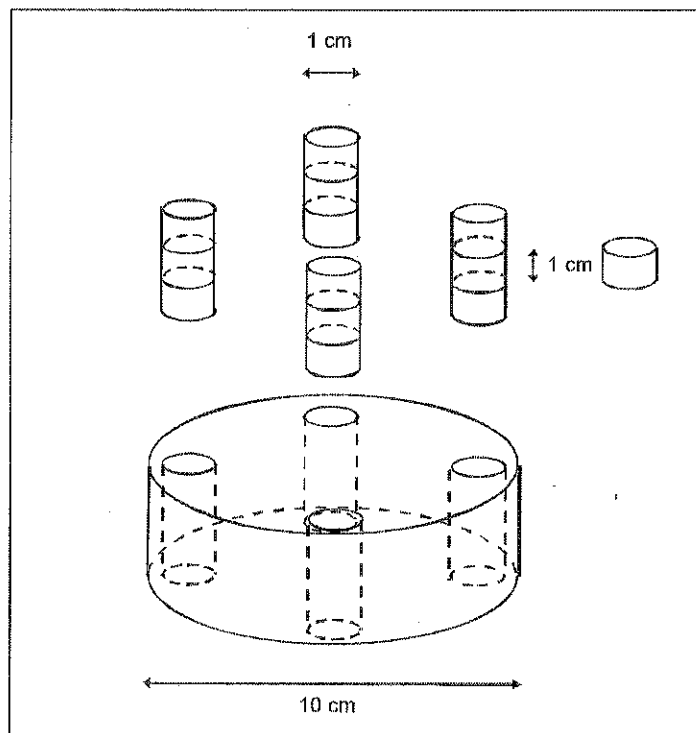


Figura 9. Esquema de la toma de muestras para análisis de perfil de textura.

El instrumento de medición que se empleó fue el analizador de textura *TA.TX2* (Stable Micro System, Ltd, Reino Unido) utilizando el software “Texture Expert”, versión 1.22. Los cilindros de queso se analizaron inmediatamente después de extraídos del queso. El APT fue a una compresión del 70 % de la altura original, a una tasa de deformación de 1.0 mm/s, con un intervalo entre mordidas de 5 s parámetros, semejantes a los utilizados por Pollard *et al.* (2003).

3.5 ANÁLISIS REOLÓGICO

Al igual que el análisis de perfil de textura, las muestras se transportaron al laboratorio en hielera y templadas a temperatura ambiente $\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para el análisis reológico. El muestro del queso para las pruebas reológicas se hizo conforme a la figura 9, sacando el centro del queso con un sacabocado de 5 cm de diámetro interno. Para obtener las rebanadas del grosor indicado se puso el cilindro en una base de vidrio (18 cm x 20 cm) con dos tiras de vidrio (20 cm x 5 cm, con 3 mm de espesor) pegadas a los costados para guiar el rebanador de queso (mango con horquilla sujetando un alambre delgado de acero inoxidable: marca ilko [Ilko Internacional, Ltda., China]) con el fin de lograr rebanadas lo más similares de espesor.

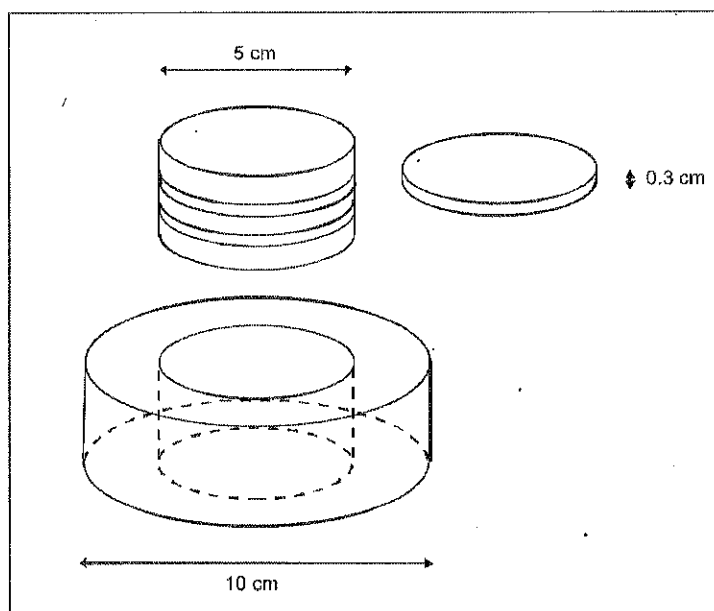


Figura 10. Esquema de la toma de muestras para pruebas reológicas.

Las propiedades viscoelásticas del queso se definieron en un reómetro modular (Physica DSR 4000, Anton Paar, Alemania). Para estudiar el efecto en la zona viscoelástica lineal de los quesos tratados, se utilizaron pruebas oscilatorias dinámicas de baja deformación, mediante un barrido de amplitud (deformación 0-100%) a una frecuencia constante (1 Hz). Los parámetros estudiados fueron módulo de almacenamiento G' , módulo de pérdida G'' y tangente de pérdida ($\tan \delta$), la cual, es la relación entre propiedades viscosas y las propiedades elásticas del material ($\tan \delta = G''/G'$). Para estas pruebas se montó encima del plato "peltier" una hoja circular de papel lija media (grano 120: Fandeli S.A de C.V., México) sujeta a la base por cinta adhesiva de doble capa de papel (Industrias Tuk S.A de C.V., México); también, se empleó la geometría (PP50/P2) con base serrada como plato superior (figura 10). Ambas medidas, fueron para prevenir lo más posible el deslizamiento de la muestra. Para la sujeción inicial de la muestra entre ambos platos se utilizó una fuerza normal de ~ 1.3 N, con el fin de que el plato serrado tuviera buen contacto con la muestra de queso sin una excesiva deformación de la misma. Las pruebas se corrieron a una temperatura constante del plato "peltier" de 20 °C.

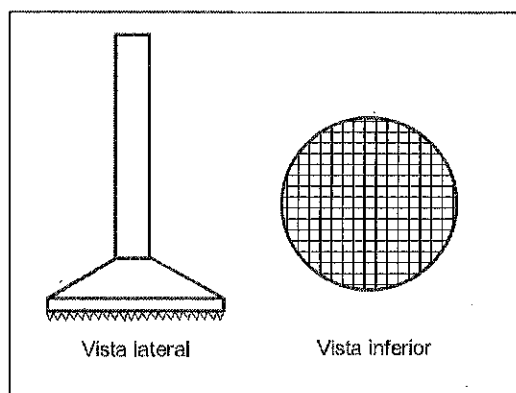


Figura 11. Esquema de la geometría (PP50/P2) de plato serrado para prevenir el deslizamiento de la muestra durante las pruebas reológicas oscilatorias.

3.6 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

3.6.1 Diseño experimental

Los resultados de las variables respuesta (firmeza, cohesividad, masticabilidad, elasticidad, módulo de almacenamiento, tangente de pérdida, módulo de pérdida, % de deformación en G' , % de deformación en G'' , pH, a_w , % de proteína soluble en ATCA 12 % e índice de maduración) con mediciones obtenidas a diferentes lapsos (7, 15, 30 y 60 días) se analizaron mediante un diseño de bloques completamente al azar con arreglo de parcelas divididas con mediciones repetidas, las variables dependientes se ordenaron de modo multivariado en forma secuencial (lapso 7-60 días: 1-4). El diseño se condujo en tres repeticiones o bloques, cada repetición se dividió en dos parcelas o tinas con baño María, factor A (niveles: 20 y 40 min de permanencia en contacto de la mezcla suero-agua, con cocimiento) y cada parcela se dividió en tres subparcelas o pequeñas tinas, factor B (niveles: 0, 25 y 50% sustitución de suero por agua). El siguiente modelo aditivo lineal se usó para el análisis de datos:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \gamma_{ij} + \beta_k + \tau_l + (\alpha\beta)_{ik} + (\alpha\tau)_{il} + (\beta\tau)_{kl} + (\rho\tau)_{jl} + (\alpha\beta\tau)_{ikl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde y_{ijkl} es la variable respuesta (variable perteneciente al APT, barrido de amplitud, pH, a_w y % de proteína soluble en ATCA 12%) observado en el i -ésimo nivel del factor A, j -ésimo bloque (repetición), k -ésimo nivel del factor B, l -ésimo lapso; μ es el efecto de la media general; α_i es el efecto del nivel del factor A; ρ_j es el efecto del bloque (repetición); γ_{ij} es el error experimental en parcelas [Error (a)]; β_k es el efecto de nivel del factor B; τ_l es el efecto del lapso; $(\alpha\beta)_{ik}$ es la interacción del nivel del factor A vs nivel del factor B; $(\alpha\tau)_{il}$ es la interacción del nivel del factor A vs lapso; $(\beta\tau)_{kl}$ es la interacción del nivel del factor B vs lapso; $(\rho\tau)_{jl}$ es la interacción del bloque (repetición) vs lapso; $(\alpha\beta\tau)_{ikl}$ es la interacción del nivel del factor A vs nivel del factor B vs lapso; y ε_{ijkl} es el efecto del error experimental en subparcelas [Error (b)]

Los datos correspondientes a los resultados de los análisis químicos proximales (humedad, materia seca, proteína, materia grasa, cenizas, calcio fósforo y cloruro de sodio) se analizaron mediante un diseño de bloques completamente al azar con arreglo de parcelas divididas. El modelo aditivo lineal utilizado para el análisis de datos fue el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \gamma_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: y_{ijk} es el resultado observado de los análisis químicos proximales con el i -ésimo nivel del factor A, j -ésimo bloque (repetición), k -ésimo nivel del factor B; μ es el efecto de la media general; α_i es el efecto del nivel del factor A; ρ_j es el efecto del bloque (repetición); β_k es el efecto del nivel del factor B; γ_{ij} es el error experimental en parcelas

[Error (a)]; $(\alpha\beta)_{ik}$ es el efecto de la interacción del nivel del factor A vs nivel del factor B; y ε_{ijk} es el efecto del error experimental en subparcelas [Error (b)].

3.7 ANÁLISIS DE VARIANZA

El análisis estadístico de varianza de los resultados del experimento, se realizó usando el procedimiento PROC GLM del software SAS versión 8.0 (SAS Inst. Inc. E. U. A.) para ambos diseños de bloques completamente al azar con arreglo de parcelas divididas, pero además, para el análisis con arreglo de mediciones repetidas se empleó la instrucción REPEATED de SAS, con un ordenamiento secuencial multivariado, en la captura de datos para las variables respuesta.

3.8 COMPARACIÓN DE MEDIAS

Realizadas las pruebas de hipótesis, se procedió a realizar una comprobación de medias de mínimos cuadrados, para lo cual, se utilizó la instrucción LSMEANS de SAS con la opción PDIFF (probabilidad de diferencia al 0.05) ajustada a una comparación múltiple de Tukey mediante la instrucción ADJUST=TUKEY.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 COMPOSICIÓN DEL QUESO.

La operación de lavado de la cuajada afecta la composición química del queso tipo Manchego mexicano. La principal fracción que significativamente se ve modificada por la operación de lavado de la cuajada es el porcentaje de humedad (cuadro 3), el cual, aumentó con respecto al porcentaje de sustitución de suero por agua (cuadros 4 y 5). Los compuestos que significativamente disminuyen con respecto al porcentaje de sustitución de suero por agua en la operación de lavado son el calcio y fósforo (cuadro 4), que por consecuencia, disminuyen el contenido de cenizas totales del queso (cuadros 4 y 5). Otro factor que también disminuye es el contenido de materia seca (cuadro 4), esta disminución no sólo puede ser atribuida por la pérdida de sales minerales, sino que además, hay pérdida de compuestos como lactosa y proteínas solubles. El contenido de NaCl y la relación sal/humedad significativamente aumentó con respecto al lapso de permanencia en contacto de la mezcla suero-agua con la cuajada en cocimiento (35 – 39 °C) (cuadro 4), sin mostrar diferencias significativas con respecto al porcentaje de sustitución de suero por agua. Esto puede deberse a dos motivos posibles: un error experimental, el cual consistió en un mayor tiempo de espera entre el salado directo y el pre-prensado, es decir, hubo mayor oportunidad que el poco suero por exudar de la cuajada, permitiera la entrada de NaCl; el segundo supuesto, es que la deshidratación del coágulo (sinéresis) propiciado por un mayor tiempo de cocimiento de la cuajada (coloquialmente mencionado por los queseros como “madurado del grano”) probablemente facilita la penetración de NaCl dentro de la cuajada durante el salado directo.

Cuadro 3. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en la composición química del queso tipo Manchego mexicano.

Factor	Atributo composicional								
	Ca	P	NaCl	Sal/hum	Proteína	Grasa	Materia Seca	Humedad	Cenizas
A	NS	NS	*	*	NS	NS	NS	NS	NS
B	**	**	NS	NS	NS	NS	**	**	**
AxB	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

A = tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

Cuadro 4. Promedios de la composición química del queso tipo Manchego mexicano expresado como porcentajes del peso del queso (medias de tres repeticiones).

Factor	Nivel	Atributo composicional								
		Ca	P	NaCl	Sal/Hum [†]	Proteína [‡]	Grasa	Materia Seca	Humedad	Cenizas
A	20	0.708a [§]	0.658a	1.794a	3.705a	21.99a	24.5a	51.58a	48.42a	2.778a
	40	0.715a	0.655a	2.195b	4.510b	21.93a	24.9a	51.33a	48.67a	2.858a
B	0	0.734a	0.678a	1.986a	4.221a	21.94a	24.9a	52.95a	47.05a	2.963a
	25	0.715ab	0.659ab	1.884a	3.892a	22.56a	24.7a	51.59ab	48.41ab	2.820a
	50	0.685b	0.633b	2.114a	4.214a	21.37a	24.5a	49.83b	50.17b	2.672a

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C) en minutos.

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

[†] Sal/Hum: Relación del % NaCl total x 100 / % humedad.

[‡] Proteína = Nitrógeno total x 6.38.

[§] Medias en cada columna por factor con diferente letra fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

Cuadro 5. Promedios de la composición química del queso tipo Manchego mexicano expresado como porcentaje del peso del queso (medias de 3 repeticiones).

	Tratamientos											
	S0P20 [†]		S25P20		S50P20		S0P40		S25P40		S50P40	
Materia Seca	52.7 [†]	±1.9	52.0	±2.0	50.1	±2.4	53.2	±2.0	51.2	±1.9	49.6	±1.9
Humedad	47.3	±1.9	48.0	±2.0	49.9	±2.4	46.8	±2.0	48.8	±1.9	50.4	±1.9
Grasa	24.7	±0.9	24.4	±1.3	24.4	±0.4	25.0	±0.6	24.9	±0.8	24.7	±0.4
Proteína [‡]	21.9	±0.4	22.5	±0.7	21.5	±2.0	21.9	±1.0	22.6	±2.3	21.3	±1.9
NaCl	1.85	±0.48	1.65	±0.29	1.88	±0.52	2.12	±0.40	2.12	±0.66	2.35	±0.68
Ca total	0.72	±0.09	0.71	±0.09	0.69	±0.08	0.75	±0.09	0.72	±0.08	0.68	±0.07
P total	0.68	±0.05	0.66	±0.06	0.64	±0.05	0.68	±0.04	0.66	±0.05	0.63	±0.04
Grasa (BS) [§]	46.89		47.00		48.67		47.04		48.58		49.81	
Proteína (BS)	41.66		43.35		42.90		41.22		44.13		42.89	
Sal/Hum ^{††}	3.92		3.44		3.76		4.53		4.33		4.67	

[†] Medias con desviación estándar.

[‡] Tratamientos: S0, S25 y S50 (Nivel de sustitución suero-agua 0, 25 y 50 % p/p); P20 y P40 (tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento [hasta 39 °C], 20 y 40 min).

[§] BS o % Base seca = [% atribuido (100 – humedad)] x 100.

[‡] Proteína = Nitrógeno total x 6.38.

^{††} Sal/Hum: Relación del % NaCl total / % humedad.

La operación de lavado de la cuajada disminuye el contenido de calcio y fósforo además de algunos otros compuestos solubles, de esta manera, es probable que durante y después de la segunda fase de la acción de la quimosina algo de calcio no sea enlazado rápidamente a la estructura paracaseica de la cuajada, por lo tanto, la relación de paracaseína dicalcio / paracaseína monocalcio previa al prensado puede ser diferente a la del queso Cheddar, el cual muestra una relación de 8:2 de paracaseína-dicalcio / paracaseína-monocalcio, que después de 24 horas de prensado, es reversible a 2:8 (Mistry, 2006), y probablemente sea diferente en el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada posterior a su prensado, siendo esta la primera fase determinante de su textura. El lavado de la cuajada incrementa la penetración de NaCl y la proporción NaCl/humedad, pueden ser resultado parcial de lo que mencionan Fox *et al.* (2000) “La solubilización de Ca²⁺ ligado a la caseína ocurre cuando es parcialmente remplazado por

Na^+ , especialmente cuando las concentraciones en la humedad del queso son bajas (30 gL^{-1} y 4 gL^{-1} respectivamente)". La pérdida de calcio, el incremento de NaCl y la proporción NaCl/humedad, provocan la expansión física o hinchamiento de la matriz proteica (Sood *et al.*, 1979; Lucey y Fox, 1993), y por consecuencia, un mayor contenido de humedad en el queso tipo Manchego de pasta lavada. Corroborando lo antes dicho, con estudios hechos en modelos de sistemas de caseína que han mostrado que la hidratación de la caseína esta relacionada inversamente a la concentración de calcio ligado a la caseína (O'Mahony *et al.*, 2005). Esto puede ser parte de la consecuencia del incremento significativo en el contenido de humedad de aquellos quesos tipo Manchego mexicano que experimentaron el lavado de la cuajada en su elaboración. Una similar influencia del contenido de calcio en el contenido de humedad del queso fue observada por otros investigadores, sin embargo, ellos atribuyen que el bajo contenido de humedad en quesos con alto contenido de calcio reduce la hidratación de la matriz para-caseína del queso comparada con quesos de bajo contenido de calcio (Guinee *et al.*, 2002; Pastorino *et al.*, 2003; Joshi *et al.*, 2004). Tanto la pérdida de calcio y fósforo de la cuajada en el queso tipo Manchego mexicano tuvieron repercusión en la disminución significativa de cenizas, a pesar del incremento significativo de sodio. Es probable que la velocidad del proceso de transferencia de sales minerales y lactosa del coagulo a la mezcla de suero-agua del lavado sea muy parecido al estudio hecho por Bressan *et al.* (1981), en el proceso de lavado de la cuajada para la hechura de queso Cottage, en donde referencia, que la transferencia de masa total es casi completada después de 50 min, con la mayor ocurrencia en los primeros 20 min. Después de 20 min, 87% de la concentración de equilibrio del total de sólidos en el agua de lavado es conseguida. Al mismo tiempo, 93% de la concentración de equilibrio de lactosa ha sido

alcanzada, así también, 78% de la concentración de otros componentes (ácido láctico, sales minerales y proteínas del suero). Esto puede dar una probable explicación porque el factor estudiado de lapso de contacto de la cuajada con la mezcla suero-agua no fue significativa en la mayoría de las variables respuesta estudiadas referentes a la composición química del queso.

4.2 PROTEÓLISIS, ÍNDICE DE MADURACIÓN, ACTIVIDAD DE AGUA Y pH

Los principales efectos entre unidades experimentales que significativamente alteró la operación de lavado de la cuajada en el estado fisicoquímico del queso tipo Manchego mexicano son la proteólisis (proteína soluble en ATCA al 12%), el pH e índice de maduración (proteína soluble en ATCA al 12% / proteína total), estos atribuidos principalmente al porcentaje de sustitución de suero por agua, sin verse estadísticamente afectados por la permanencia en contacto de la mezcla suero – agua con la cuajada (cuadro 6). Todos los aspectos fisicoquímicos estudiados (proteólisis, pH, actividad de agua e índice de maduración) fueron influidos por el tiempo de maduración (cuadro 7). La proteólisis e índice de maduración incrementaron significativamente con respecto al tiempo de maduración, la tasa de incremento de éstos aspectos fue mayor en los tratamientos que se efectuó el lavado de la cuajada (cuadro 8), éste hecho es influido por la interacción con el tiempo de madurado tanto del porcentaje de sustitución suero por agua del lavado, así como también, de su permanencia en contacto con el gránulo de cuajada mientras está en cocimiento (cuadros 7 y 8). El pH es significativamente mayor en los quesos que se efectuó el lavado de la cuajada para su hechura (cuadro 8), esto atribuido al porcentaje de sustitución de suero por agua (cuadro 7). El pH

significativamente disminuyó en todas las muestras de una misma unidad experimental con respecto del tiempo de maduración (cuadros 7 y 8). La actividad de agua no fue significativa entre tratamientos (cuadro 6). La actividad de agua permaneció sin variar significativamente durante los primeros 30 días de almacenamiento en muestras de la misma unidad experimental, pero presentó una disminución significativa en todas las unidades al día 60 de almacenamiento (cuadro 8).

Cuadro 6. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en aspectos fisicoquímicos del queso tipo Manchego mexicano.

Factor(es)	Atributo fisicoquímico			
	Proteólisis [†]	pH	a _{wp}	IM [‡]
A	NS	NS	NS	NS
B	**	**	NS	**
A x B	NS	NS	NS	NS

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

[†] Fracción de Nitrógeno soluble en ácido tricloroacético al 12 %.

[‡] IM = Índice de maduración, calculado a partir de la fracción de proteína soluble en ácido tricloroacético al 12 %, entre el porcentaje de proteína total del queso (factor 6.38).

Cuadro 7. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en aspectos fisicoquímicos dentro de muestras del mismo lote de queso tipo Manchego mexicano con respecto del factor: tiempo de maduración.

Factor (es)	Atributo fisicoquímico			
	Proteólisis [†]	pH	a _{wp}	IM [‡]
Tiempo de Maduración [§]	**	**	**	**
Tiempo de Maduración x A	**	NS	NS	**
Tiempo de Maduración x B	**	*	NS	**
Tiempo de Maduración x A x B	**	NS	NS	NS

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

[†] Fracción de Nitrógeno soluble en ácido tricloroacético al 12 %.

[‡] IM = Índice de maduración, calculado a partir de la fracción de proteína soluble en ácido tricloroacético al 12 %, entre el porcentaje de proteína total del queso (factor 6.38).

[§] Tiempo de maduración estimado para el queso tipo Manchego mexicano elaborado de leche pasteurizada: 2 meses seccionado en 4 lapsos (7, 15, 30 y 60 días).

Cuadro 8. Promedios de los principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en aspectos fisicoquímicos del queso tipo Manchego mexicano, evaluado a diferentes etapas de maduración.

Atributo fisicoquímico	Factor	Nivel	Tiempo de maduración (días)			
			7	15	30	60
Proteólisis [†]	A	20	0.151 C ^a [§]	0.335 Ca	0.830 Ba	1.601 Aa
		40	0.151 Ca	0.356 Cb	1.093 Ba	1.886 Ab
	B	0	0.151 Ca	0.282 Ca	0.690 Ba	1.295 Aa
		25	0.151 Ca	0.308 Ca	0.855 Bb	1.622 Ab
		50	0.151 Ca	0.446 Cb	1.339 Bc	2.313 Ac
pH	A	20	4.95 Aa	4.94 Aa	4.91 Aa	4.82 Aa
		40	4.96 Aa	4.95 Aa	4.98 Ab	4.90 Aa
	B	0	4.81 Aa	4.81 Aa	4.79 Aa	4.74 Aa
		25	4.95 Aab	4.91 Aa	4.85 Aa	4.82 Aa
		50	5.10 Ab	5.12 Ab	5.21 Ab	5.02 Aa
a _w	A	20	0.988 Ba	0.987 Ba	0.991 Ba	0.982 Aa
		40	0.987 Ba	0.987 Ba	0.991 Ba	0.978 Ab
	B	0	0.986 Ba	0.986 Ba	0.991 Ba	0.979 Aa
		25	0.988 Ba	0.988 Ba	0.991 Ba	0.982 Aa
		50	0.988 Ba	0.988 Ba	0.990 Ba	0.979 Aa
IM [¶]	A	20	0.0091 Ca	0.0153 Ca	0.0382 Ba	0.0733 Aa
		40	0.0090 Ca	0.0162 Ca	0.0499 Ba	0.0865 Aa
	B	0	0.0092 Ca	0.0129 Ca	0.0317 Ba	0.0591 Aa
		25	0.0088 Ca	0.0137 Ca	0.0378 Ba	0.0718 Aa
		50	0.0093 Ca	0.0209 Cb	0.0627 Bb	0.1088 Ab

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C) en minutos.

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

[†] Porcentaje de Nitrógeno soluble en ácido tricloroacético al 12 %.

[‡] Medias en cada fila por factor con diferente letra mayúscula, fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

[§] Medias en cada columna por factor con diferente letra minúscula, fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

[¶] IM = Índice de maduración, calculado a partir de la fracción de proteína soluble en ácido tricloroacético al 12 %, entre el porcentaje de proteína total del queso (factor 6.38).

Además de la pérdida de sales mineras y la ganancia de humedad en el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada debido al porcentaje de sustitución de agua-suero, hubo un incremento significativo en la proteólisis (Proteína soluble en ATCA al 12%) e Índice de Maduración. Upreti *et al.*, (2006) reportó que en queso Cheddar con bajo contenido de calcio, fósforo, lactosa y sal/humedad mostraron altos niveles de proteólisis comparados con tratamientos altos en dichos componentes. Esta situación es muy parecida a la reportada en este experimento, ya que el lavado de la cuajada propicia la

disminución de calcio, fósforo y lactosa, pero sin mostrar diferencias en la relación sal/humedad. Por lo que se podría decir de acuerdo a Upreti *et al.* (2006), que la diferencia en la tasa de proteólisis para queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada podría ser debida a cambios en la conformación de la matriz proteína. El calcio y fósforo contribuyen a la estructura de la caseína micelar y la remoción de calcio y fósforo causa desagregación de la matriz paracaseína (Hsu y Shipe, 1986). Esta desagregación expone una gran área de proteínas a las proteasas y dirige a un incremento en la interacción sustrato-enzima (cuajo o coagulante). Por consiguiente los quesos con bajo contenido de calcio y fósforo exhiben alta proteólisis (Lawrence *et al.*, 1987). Upreti *et al.* (2005) mencionan que quesos Cheddar con bajo contenido de calcio y fósforo tienen una mayor actividad de la quimosina residual en comparación con niveles más elevados de dichos elementos, lo cual, incrementa la proteólisis e índice de maduración. De acuerdo a lo antes expuesto, podemos afirmar que la actividad de la quimosina es mayor en quesos tipo Manchego mexicano de pasta lavada que presentan un menor contenido de calcio y fósforo en comparación con la versión "normal" y son más susceptibles a que la α_{s1} -caseína sea más fácil hidrolizada cuando carece de enlaces calcio-caseína (ión-proteína). Por ello, los quesos de pasta lavada tienen una tasa de maduración más rápida.

Tanto el fosfato de calcio como de magnesio actúan como reguladores de pH y están contenidos en el suero atrapado en el queso, estas sales pueden incrementar también la acidez durante el cocimiento (Mistry, 2006). Sin embargo, la operación de lavado de la cuajada en el queso tipo Manchego, rebaja la concentración de fósforo en el queso, lo cual, indica que sales reguladoras que se componen de él, son removidas parcialmente, por lo tanto, el queso tipo Manchego de pasta lavada tiene menor

capacidad reguladora, no obstante, dicha reducción de la capacidad reguladora no es clara, ya que además de la remoción de parte del contenido de calcio y fósforo, también es removida lactosa y ácido láctico, por lo cual, las posibilidades de acidificación y disminución del pH son reducidas, y por ello, el pH del queso de pasta lavada es alto. Por el contrario, la tasa de producción de ácido láctico puede tener un efecto secundario en el pH del queso tipo Manchego mexicano “normal”, esto puede afectar la sinéresis y por lo tanto, el contenido de humedad del queso, la cual, es menor en comparación con el de pasta lavada. Según Fox y McSweeney (2003) el “chedarizado” promueve varias condiciones fisicoquímicas las cuales favorecen el flujo y texturización de la cuajada, entre ellas incluyen: una disminución del pH y solubilización del calcio micelar, el cual, esta ligado a la caseína y actúa como un agente adhesivo entre las micelas y submicelas de caseína. Además mencionan, un incremento en la proporción de calcio soluble a calcio ligado a la caseína; El calcio soluble incrementa de ~5 a 40 % del calcio total en la cuajada cuando el pH disminuye de 6.15 a 5.2. La operación de lavado de la cuajada actúa antes de que la disminución del pH propiciada por los cultivos iniciadores, disminuya la solubilización del calcio micelar por lo que el calcio es disuelto y arrastrado por exósmosis fuera de la micela de caseína por la mezcla suero-agua. Dando como probable consecuencia que la proporción de calcio soluble a calcio ligado en la matriz paracaseína sea menor que en la del queso que no fue lavado.

La actividad de agua (a_w) es una medida del estado de energía del agua en un sistema. Esta indica que tan fuertemente ligada está el agua, estructuralmente o químicamente, dentro del sistema. Durante la proteólisis secundaria, la α_{s1} -caseína es hidrolizada a péptido α_{s1} -I por la quimosina residual, haciendo al queso más suave, liso y

homogéneo (Lawrence *et al.*, 1987). El incremento de la proteólisis secundaria en el queso genera péptidos que tienen nuevos grupos cargados ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$) y estos grupos compiten por el agua “libre” por lo que hay una disminución de la actividad de agua. Por lo tanto, debido a los valores obtenidos se deduce que después de los 30 días empieza la proteólisis secundaria en el queso tipo Manchego mexicano.

4.9 TEXTURA (ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA APT)

Los principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en los parámetros del análisis de perfil de textura del queso tipo Manchego mexicano son resumidos en los cuadros 9 y 10. Los principales parámetros del análisis de perfil de textura que se vieron influidos entre tratamientos por la operación de lavado de la cuajada en el queso tipo Manchego mexicano fueron firmeza cohesividad y resiliencia, estos atribuidos principalmente al porcentaje de sustitución de suero por agua, el tiempo de contacto de la mezcla suero/agua no produjo diferencias significativas (cuadro 9). Elasticidad y Masticabilidad no produjeron diferencias significativas entre unidades experimentales (cuadro 9). Todas las características del perfil de textura presentaron diferencias significativas con respecto al factor tiempo de almacenamiento dentro de cada tratamiento (cuadro 10). La resiliencia (energía potencial acumulada en un material a deformación elástica; Término sinónimo de no fragilidad o resistencia al impacto) de las mismas unidades experimentales tuvo interacción significativa entre el porcentaje de sustitución de suero por agua de la operación de lavado de la cuajada con el tiempo de maduración (cuadro 10). Por otra parte, la masticabilidad dentro de cada tratamiento mostró interacción significativa entre el porcentaje de sustitución suero por agua y el tiempo de contacto con la mezcla suero-agua con respecto al tiempo de

maduración (cuadro 10). Los valores de firmeza y resiliencia fueron mayores en los quesos tipo Manchego mexicano que no fueron lavados para su elaboración, por el contrario, el porcentaje de sustitución de suero por agua produjo una relación inversamente proporcional con los valores de firmeza y resiliencia del queso (cuadro 11). Los valores de cohesividad fueron menor en los quesos que no fueron lavados, y por el contrario, el porcentaje de sustitución de suero por agua produjo una relación directamente proporcional con los valores de cohesividad del queso. Los valores de firmeza, y masticabilidad disminuyeron significativamente en muestras de la misma unidad experimental con respecto del tiempo de almacenamiento, debido a ambos factores (porcentaje de sustitución y tiempo en contacto) (cuadro 11). Por otra parte, los valores de cohesividad y la resiliencia variaron significativamente con respecto del tiempo, pero sin presentar una tendencia clara (cuadro 11). Los valores de resiliencia aumenta a una tasa mayor con un menor tiempo de contacto (20 min.) con la mezcla suero-agua en cocimiento sin ser significativa; además, éstos valores incrementaron en los tratamientos sin lavado o con poco porcentaje (25%) de sustitución de suero por agua, por el contrario, disminuye con porcentaje del 50% de sustitución suero/agua en el lavado de la cuajada. Los valores de cohesividad en las muestras de pasta lavada se mantuvieron con cierta monotonía durante los 60 días de maduración, sin embargo, los valores de cohesividad de las muestras sin lavado exhibieron una ligera disminución. El tiempo de cocimiento tuvo marginalmente ($P < 0.06$) un efecto en los valores de cohesividad entre muestras, siendo ligeramente menores en las muestras con un tiempo de cocimiento de 20 minutos en comparación con las de 40 min.

Cuadro 9. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características del perfil de textura del queso tipo Manchego mexicano.

Factor (es)	Atributo de textura				
	Firmeza	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad	Resiliencia
A	NS	NS	NS	NS	NS
B	**	NS	*	NS	*
A x B	NS	NS	NS	NS	NS

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

Cuadro 10. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características del perfil de textura, dentro de muestras del mismo lote de queso tipo Manchego mexicano con respecto del factor: tiempo de maduración.

Factor (es)	Atributo de textura				
	Firmeza	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad	Resiliencia
Tiempo de Maduración [†]	**	*	*	**	**
Tiempo de Maduración x A	*	NS	NS	*	NS
Tiempo de Maduración x B	*	NS	NS	*	*
Tiempo de Maduración A x B	NS	NS	NS	**	NS

A = Tiempo en contacto de la mezcla suero-agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

[†] Tiempo de maduración estimado para el queso tipo Manchego mexicano elaborado de leche pasteurizada: 2 meses seccionado en 4 lapsos (7, 15, 30 y 60 días).

Cuadro 11. Promedios de los principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características del perfil de textura del queso tipo Manchego mexicano, evaluado a diferentes etapas de maduración.

Característica	Factor	Nivel	Tiempo de maduración (días)			
			7	15	30	60
Firmeza (N)	A	20	8.761 A [†] a [‡]	7.512 ABa	6.651 Ba	5.582 Ca
		40	7.802 Aa	6.889 ABb	6.171 Ba	5.091 Ca
	B	0	9.890 Aa	8.956 ABa	8.505 ABa	7.299 Ba
		25	8.640 Aab	7.547 ABb	6.690 ABb	5.769 Ba
		50	6.310 Ab	5.099 ABc	4.038 Bc	2.942 Bc
Elasticidad	A	20	0.832 Aa	0.824 Aa	0.798 Aa	0.750 Aa
		40	0.806 Aa	0.819 Aa	0.799 Aa	0.785 Aa
	B	0	0.834 Aa	0.853 Aa	0.811 Aa	0.763 Aa
		25	0.821 Aa	0.814 Aa	0.811 Aa	0.757 Aa
		50	0.803 Aa	0.798 Aa	0.773 Aa	0.783 Aa
Cohesividad	A	20	0.329 Aa	0.326 Aa	0.295 Aa	0.299 Aa
		40	0.365 Aa	0.371 Aa	0.356 Ab	0.369 Aa
	B	0	0.242 Aa	0.237 Aa	0.222 Aa	0.214 Aa
		25	0.369 Ab	0.353 Aba	0.324 Ab	0.342 Aab
		50	0.430 Ab	0.457 Ab	0.431 Ac	0.446 Ab
Masticabilidad	A	20	3.408 Aa	2.934 ABa	2.381 Ba	2.101 Ba
		40	3.161 Aa	2.824 ABa	2.401 ABa	2.083 Ba
	B	0	3.213 Aa	2.929 Aa	2.750 Aab	2.493 Aa
		25	3.647 Aa	3.049 ABa	2.570 ABa	2.392 Ba
		50	2.992 Aa	2.547 ABa	1.869 ABb	1.376 Ba
Resiliencia	A	20	0.715 Aa	0.717 Aa	0.827 Aa	0.821 Aa
		40	0.630 Aa	0.661 Aa	0.709 Ab	0.764 Aa
	B	0	0.825 Aa	0.866 ABa	0.903 ABa	0.893 Ba
		25	0.584 Ab	0.602 Ab	0.674 Ab	0.808 Aa
		50	0.610 Aab	0.599 Ab	0.620 Ab	0.597 Aa

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero-agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C) en minutos.

B = Porcentaje de sustitución de suero agua (p/p).

[†] Medias en cada fila por factor con diferente letra mayúscula, fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

[‡] Medias en cada columna por factor con diferente letra fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

El contenido de humedad, NaCl y calcio del queso pueden alterar el efecto del pH en la textura del queso. Está bien establecido que quesos con contenidos de humedad altos a un pH y contenido de NaCl dado, son menos firmes que su contraparte con menor contenido de humedad (Gunasekaran y Ak, 2003). Por otra parte, Fox *et al.* (2000),

hacen referencia que la humedad en el queso actúa como un plastificante de la matriz proteica, y por lo tanto, hacen a éste menos elástico y más susceptible a la fractura bajo compresión. Chevanan y Muthukumarappan (2007) mencionan que “la firmeza del queso del queso Cheddar preparado con bajos niveles de calcio, fósforo, lactosa residual y proporción Sal/humedad, fue siempre menor que la correspondiente a altos niveles de calcio, fósforo, lactosa residual y proporción Sal/humedad”. De ahí que, el incremento en el contenido de humedad resulta en la disminución de la firmeza. Tomando como referencia lo expuesto anteriormente, diremos que, el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada al tener mayor contenido de humedad que la versión “normal” es menos firme y presenta un comportamiento más plástico y menos elástico. Corroborando, con los resultados obtenidos del análisis de perfil de textura, efectivamente la firmeza fue menor. La masticabilidad es la cantidad de trabajo necesaria para masticar una muestra hasta un estado lista para ser tragada; Por otro lado, la cohesividad es la cantidad de deformación que experimenta un material antes de la ruptura cuando la mordida traspasa completamente la muestra usando los molares (Gunasekaran y Ak, 2003). La resiliencia es la energía potencial acumulada en un material a deformación elástica, termino sinónimo de no fragilidad o resistencia al impacto. La resiliencia es pocas veces reportada en el análisis de perfil de textura para quesos. De acuerdo a los datos de firmeza, cohesividad y resiliencia obtenidos, se observaron valores mayores de cohesividad en quesos que experimentaron el lavado en su elaboración; Por el contrario, los valores de resiliencia fueron mayores en los quesos que no experimentaron lavado en su elaboración. Comprendiendo la textura del queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada diremos que su plasticidad hace que éste sea menos firme, más cohesivo y menos “resiliente” en comparación con su versión “normal”, de ahí que sea más suave y

presente mayor oposición a ser fraccionado al ser masticado y sea más deformable al impacto de la mordida. Además, la textura firme del queso tipo Manchego de pasta lavada en comparación con su versión “normal” disminuye más rápidamente con el tiempo de afinado, lo cual, representa menor cantidad de trabajo para ser tragado.

4. 4 REOLOGÍA DEL QUESO

Los quesos son un material viscoelástico y sus propiedades reológicas pueden ser descritas por dos parámetros, el módulo de almacenamiento (G'), el cual es una medida de su naturaleza elástica, y el módulo de pérdida (G'') el cual es una medida de su naturaleza viscosa. Barridos de amplitud fueron utilizados para determinar los módulos de G' y G'' , así también, para determinar los puntos críticos del comportamiento viscoelástico lineal. Los barridos de amplitud (0-100% de deformación, a una frecuencia constante de 1 Hz) mostraron diferencias entre quesos, principalmente notorias en la magnitud de esfuerzo y curvas de inflexión (figuras 12 y 13). Todos los quesos mostraron comportamientos similares caracterizados por una región lineal descrita por los valores constantes de esfuerzo en G' y G'' a una magnitud de deformación baja. Esta región indica que el esfuerzo fue proporcional a la deformación. Posteriormente, a una deformación mayor se muestra un punto crítico (punto en el cual se desvía por más del 10% del valor constante de esfuerzo cortante), donde se experimenta una inflexión hacia abajo, ínterespacio que indica la pérdida de la linealidad, relacionada con la cantidad de esfuerzo que el queso puede soportar antes de la ruptura (Tunick *et al.* 1990). Esta zona o punto de inflexión se presenta cuando se excede la región viscoelástica lineal, y sus valores dependen de la estructura de la red dentro del queso. Está bien establecido que si

se evalúan quesos con diferente composición o elaborados con diferentes condiciones, exhibirán diferentes valores de los módulos (G' y G'') (Gunasekaran y Ak, 2003). En las figuras 12 y 13 se puede observar que todos los quesos exhibieron valores mayores de G' que los correspondientes a G'' . Éste tipo de comportamiento es característico de un material viscoelástico sólido (Rao, 1999; Tabilo y Barbosa, 2004). También, se puede observar diferencias en las magnitudes de esfuerzo tanto para G' y G'' entre tratamientos, los quesos que experimentaron lavado de la cuajada mostraron magnitudes menores de esfuerzo que los no lavados, cuyas diferencias se ven más pronunciadas en el transcurso del tiempo de almacenamiento (figuras 12d y 13d). Por otro lado, el punto de inflexión ocurre a un porcentaje de deformación menor para los quesos no lavados en comparación con aquellos de pasta lavada, además las curvas de los quesos no lavados presentan una pendiente de desviación de la zona viscoelástica lineal más acentuada en comparación con las curvas de los quesos lavados, lo cual probablemente indique cierto comportamiento elástico-plástico de estos últimos. Éstas tendencias ocurren tanto para G' como para G'' .

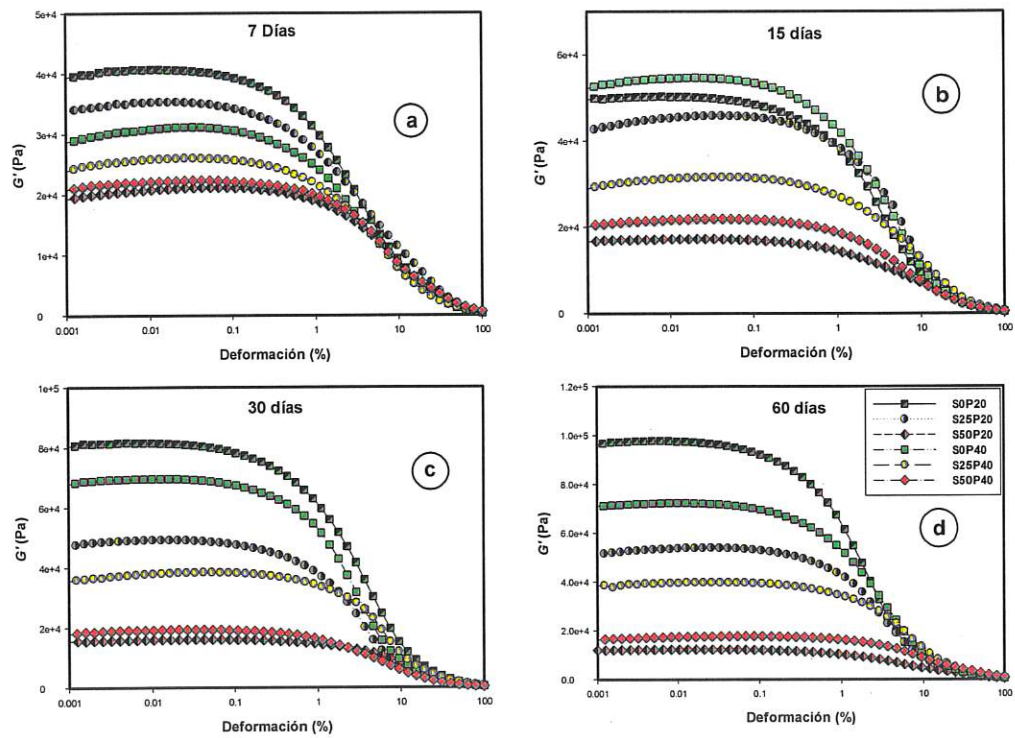


Figura 12. Módulo de almacenamiento (G') del queso tipo Manchego mexicano en función del tiempo.

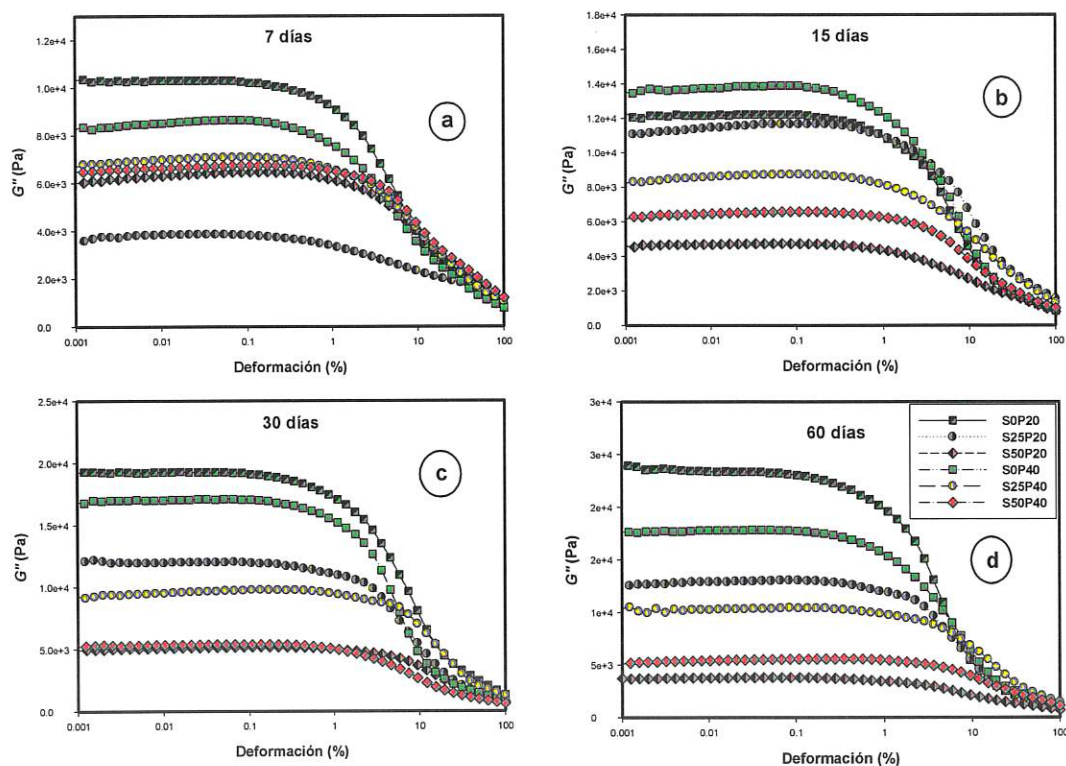


Figura 13. Módulo de pérdida (G'') del queso tipo Manchego mexicano en función del tiempo

En el cuadro 12 se muestran los parámetros reológicos del queso tipo Manchego mexicano que fueron afectados por la operación de lavado. El porcentaje de sustitución de suero por agua produjo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos, en los módulos de almacenamiento y pérdida (G' y G''); También produjo cambios altamente significativos en los puntos críticos de las zonas viscoelásticas lineales descritos por dichos módulos en función del porcentaje de deformación. Por otro lado, el tiempo de contacto de la mezcla suero/agua no causó diferencias significativas en los módulos (G' y G'') pero si influyó de manera significativa para diferenciar cambios en los puntos críticos de las zonas viscoelásticas lineales descritos por éstos módulos. El ángulo de fase ($\tan \delta$) no fue un parámetro reológico que permitiera

determinar cambios propiciados por la operación del lavado de la cuajada, en éste experimento. La interacción entre el porcentaje de sustitución suero por agua, y el tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada, no mostró diferencias significativas en los diferentes parámetros reológicos del queso.

En el cuadro 13 se muestra cómo el factor tiempo de maduración influye en los parámetros reológicos dentro de cada tratamiento. El tiempo de maduración afecta de manera altamente significativa ($P \leq 0.01$) ambos módulos (G' y G''), pero no afecta el ángulo de fase ($\tan \delta$), ni los puntos críticos de las zonas viscoelástica lineales en G' y G'' . La interacción del tiempo de maduración con el tiempo de contacto de la mezcla suero/agua determinó cambios significativos en los módulos de G' y G'' , pero no afectó el ángulo de fase, ni los puntos críticos de las zonas viscoelástica lineales descritas por ambos módulos. Por otro lado, la interacción del tiempo de maduración con el porcentaje de sustitución suero por agua exhibió diferencias altamente significativas tanto para el módulo de G' como en el de G'' , sin embargo, no presentó diferencias en el ángulo de fase, ni los puntos críticos de las zonas viscoelásticas lineales descritas por ambos módulos.

En el cuadro 14 se muestran en cada columna los valores medios de los parámetros reológicos por tratamiento, determinados a cierto lapso de tiempo de maduración (7, 15, 30 y 60 días). Además, en cada fila se muestran los valores medios por factor experimental (A= tiempo de contacto con la mezcla suero/agua; B= porcentaje de sustitución suero por agua) a cierto nivel (A= 20 y 40 min; B= 0, 25 y 50 %). En general, los valores de esfuerzo en el módulo de almacenamiento (G') no presentaron

diferencias significativas entre tratamientos, durante los primeros 15 días de maduración (cuadro 14); después de 30 días las diferencias entre tratamientos se hicieron presentes debidas al porcentaje de sustitución de suero por agua, siendo más marcadas para los quesos con 50% de sustitución de suero por agua (cuadro 14; figura 12c); Los quesos que experimentaron la operación de lavado de la cuajada en su elaboración siempre mostraron valores menores de esfuerzo cortante en G' en comparación con los no lavados. Respecto al tiempo de maduración y dentro de cada tratamiento hubo incrementos de esfuerzo en G' , para los quesos con ligero (25%) o nulo (0%) lavado de la cuajada, presentando significativamente valores menores de esfuerzo en G' a los 7 días, con tendencia creciente hasta los 60 días de almacenamiento; Para los quesos con 50% de sustitución suero/agua, no hubo diferencias significativas dentro del mismo tratamiento con respecto al tiempo de maduración, aunque se exhibió una ligera tendencia decreciente de sus valores hacia el día 60 de afinado. Por otro lado, los valores de esfuerzo en G'' presentaron diferencias significativas entre tratamientos desde los siete días, siendo estadísticamente semejantes los valores de los quesos tipo Manchego de pasta lavada y distintos de la versión "normal" (cuadro 14; figura 13a); además, al igual que en el módulo de almacenamiento (G'), los valores de esfuerzo cortante en el módulo de pérdida (G'') fueron siempre menores en quesos de pasta lavada en comparación con los no lavados. Posteriormente, a los 30 días se presentaron diferencias significativas entre tratamientos a todos los niveles de sustitución de suero por agua y se mantuvo hasta los 60 días. Respecto al tiempo de madurado y dentro de cada tratamiento hubo incrementos significativos de los valores de esfuerzo en G'' , para los quesos con ligero (25%) o nulo (0%) lavado de la cuajada, presentando significativamente valores menores de esfuerzo en G' a los 7 días, con tendencia creciente hasta los 60 días de

almacenamiento; Para los quesos con 50% de sustitución suero/agua, no hubo diferencias significativas dentro del mismo tratamiento con respecto al tiempo de maduración, sin embargo, si hubo una ligera disminución de sus valores de esfuerzo con Los valores del factor de pérdida o ángulo de fase ($\tan \delta$) entre tratamientos, indican que el comportamiento reológico del queso fuera como material viscoelástico predominantemente sólido ($\tan \delta > 0$). Sin embargo, el ángulo de fase ($\tan \delta$) no fue un parámetro reológico que permitiera encontrar diferencias significativas en éste experimento (cuadros 12 y 13), además, respecto al tiempo de maduración, tampoco hubo diferencias significativas dentro de cada tratamiento con respecto al ángulo de fase, esto puede ser debido a la alta variabilidad de los datos. Los valores de los puntos críticos de la zona viscoelástica lineal que describieron G' y G'' en función de la deformación cortante mostraron diferencias significativas entre tratamientos desde los siete días de almacenamiento, exhibiendo menores valores críticos en el queso tipo Manchego mexicano versión "normal", en comparación con los tratamientos de pasta lavada, ésta tendencia se mantuvo durante los 60 días de afinado. Por el contrario, el incremento de dichos valores fue proporcional al porcentaje de sustitución suero/agua (cuadro 15; figuras 12 y 13). Además, los valores de los puntos críticos de la zona viscoelástica lineal en ambos módulos (G' y G'') presentaron valores significativamente menores a los 15 días de almacenamiento, en quesos que experimentaron un "trabajo de grano" (tiempo de permanencia en contacto de la mezcla suero-agua con cocimiento en agitación o sólo el cocimiento con agitación) menos prolongado (20 min) (cuadro 15). Dentro de cada tratamiento no hubo diferencias significativas con respecto al tiempo de maduración para ambos módulos (G' y G'').

Cuadro 12. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada en las características reológicas del queso tipo Manchego mexicano.

Factor	Atributo reológico				
	G'	G''	$\tan \delta$	Punto crítico en G'	Punto crítico en G''
A	NS	NS	NS	**	*
B	**	**	NS	**	**
A x B	NS	NS	NS	NS	NS

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

Cuadro 13. Principales efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada sobre los parámetros reológicos, dentro de muestras del mismo lote de queso tipo Manchego mexicano con respecto del factor: tiempo de maduración.

Factor (es)	Atributo reológico				
	G'	G''	$\tan \delta$	Punto crítico en G'	Punto crítico en G''
Tiempo de Maduración [†]	**	**	NS	NS	NS
Tiempo de Maduración x A	*	*	NS	NS	NS
Tiempo de Maduración x B	**	**	NS	NS	NS

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C).

B = Porcentaje de sustitución de suero por agua (p/p).

* Probabilidad de significancia $P \leq 0.05$

** Probabilidad de significancia $P \leq 0.01$

NS = No significativo.

[†] Tiempo de maduración estimado para el queso tipo Manchego mexicano elaborado de leche pasteurizada: 2 meses seccionado en 4 lapsos (7, 15, 30 y 60 días).

Cuadro 14. Valores medios de los efectos propiciados por la operación de lavado de la cuajada sobre los parámetros reológicos del queso tipo Manchego.

Característica	Factor	Nivel	Tiempo de maduración (días)			
			7	15	30	60
G' (kPa)	A	20	36433.3 C [†] a [‡]	40075.9 BCa	53947.1 ABa	67059.7 Aa
		40	37942.0 Ca	50115.7 BCa	57070.7 ABa	63016.7 Aa
	B	0	46337.9 Ca	62797.5 BCa	84984.3 ABa	101091.6 Aa
		25	36272.0 Ca	46637.5 BCa	57307.1 ABab	71761.3 Aa
		50	28953.1 Aa	25852.3 Aa	24235.3 Ab	22261.7 Ab
G'' (kPa)	A	20	10623.2 Ca	11535.7 BCa	14329.8 ABa	17160.4 Aa
		40	9993.5 Ca	12881.2 BCa	14232.9 ABa	15850.4 Aa
	B	0	12459.2 Ca	16153.8 Ba	20567.6 ABa	24351.0 Aa
		25	9817.2 Cb	12837.6 CBab	14985.6 ABb	18180.2 Ab
		50	8648.7 Ab	7633.9 Ab	7290.7 Ac	6985.0 Ac
$\tan \delta$	A	20	0.293 Aa	0.290 Aa	0.280 Aa	0.278 Aa
		40	0.265 Aa	0.259 Aa	0.250 Aa	0.255 Aa
	B	0	0.264 Aa	0.249 Aa	0.229 Aa	0.226 Aa
		25	0.268 Aa	0.274 Aa	0.259 Aa	0.251 Aa
		50	0.304 Aa	0.300 Aa	0.308 Aa	0.323 Aa

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero-agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C) en minutos.

B = Porcentaje de sustitución de sustitución suero por agua (p/p).

[†] Medias en cada fila por factor con diferente letra mayúscula, fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

[‡] Medias en cada columna por factor con diferente letra fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

Cuadro 15. Valores medios de los puntos críticos de la zona viscoelástica lineal de G' y G'' de queso de pasta lavada tipo Manchego mexicano evaluados a diferentes etapas de maduración

Característica	Factor	Nivel	Tiempo de maduración (días)			
			7	15	30	60
Punto crítico en G' (%)	A	20	0.524 A [†] a [‡]	0.486 Aa	0.415 Aa	0.290 Aa
		40	0.449 Aa	0.633 Ab	0.517 Ab	0.467 Ab
	B	0	0.268 Aa	0.405 Aa	0.252 Aa	0.146 Aa
		25	0.342 Aa	0.557 Aab	0.442 Ab	0.284 Aa
		50	0.848 Ab	0.716 Ab	0.703 Ac	0.706 Ab
Punto crítico en G'' (%)	A	20	1.172 Aa	1.107 Aa	1.203 Aa	0.932 Aa
		40	0.809 Aa	1.336 Ab	1.562 Aa	1.347 Ab
	B	0	0.470 Aa	0.861 Aa	0.737 Aa	0.479 Aa
		25	0.468 Aa	1.207 Aab	1.504 Ab	0.904 Aa
		50	2.032 Ab	1.596 Ab	1.906 Ab	2.035 Ab

A = Tiempo de contacto de la mezcla suero/agua con la cuajada en cocimiento (35-39° C) en minutos.

B = Porcentaje de sustitución de sustitución suero por agua (p/p).

[†] Medias en cada fila por factor con diferente letra mayúscula, fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

[‡] Medias en cada columna por factor con diferente letra fueron significativamente diferentes (prueba: medias de mínimos cuadrados con ajuste para comparación múltiple de Tukey) $P \leq 0.05$.

Está bien establecido que la reología del queso es una función de su composición incluyendo el contenido de humedad (O'Callegan y Guinee, 2004). Como se mencionó anteriormente la operación de lavado de la cuajada propicia la remoción parcial de calcio y fósforo por la sustitución de suero/agua, lo cual, propicia el hinchamiento de la matriz proteica (Creamer y Olson, 1982), y por consecuencia, aumenta el contenido de humedad en el queso. McMahon *et al.* (2005), refieren que la reducción de calcio y la consecuente reducción de interacciones proteína-ión-proteína, aparentemente incrementa la hidratación de la caseína y más suero queda atrapado dentro de la matriz del queso. El efecto de disminución de la rigidez propiciado por la hidratación de la red es también evidente en la disminución de los valores de esfuerzo en G' y G'' debido al incremento de humedad en el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada en comparación con la versión "normal". Observaciones similares en cuanto a la disminución del esfuerzo en G' propiciado por el incremento del contenido de humedad han sido hechas por otros investigadores en quesos naturales e imitaciones. Luyten, 1988 reportó que el incremento del contenido de humedad en queso tipo Holandés (Gouda) de 40 a 60% (p/p) resulta de una marcada reducción del esfuerzo. Similarmente, Watkinson *et al.* (2002), reportaron que el incremento del contenido de humedad (40 a 48%) en quesos modelo tipo Cheddar resultó en una alta disminución en el esfuerzo normal y grado de resquebrajamiento en la fractura. Por otro lado, Hennelly *et al.* (2004), reportaron que los valores de G' a 22 °C de quesos imitación con bajo contenido de humedad (46 %; p/p) fueron significativamente diferentes que aquellos de más alto contenido de humedad (50, 52, y 54%; p/p).

La deformación plástica de polímeros sucede cuando un polímero es sometido a esfuerzo y la carga origina un deslizamiento molecular en el material produciendo una deformación inelástica (Mitchell, 2004). El agua juega un rol importante en la relación propiedad-estructura de los alimentos, particularmente vía sus interacciones con las proteínas, ya sea como solvente o plastificante (Tolstoguzov, 2008). Por otra parte, Nolan *et al.* (1990), afirman, que el principal efecto del agua como plastificante en polímeros alimenticios es reducir la rigidez del material. En el queso, el agua actúa como un plastificante (Fox *et al.*, 2000). El lavado de la cuajada en los quesos californianos Colby y Monterey Jack propicia que presenten una textura plástica (Lawrence *et al.*, 1993). El incremento del contenido de humedad en el queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada en comparación con la versión “normal” propició el aumento de los valores de los puntos críticos de la zona viscoelástica lineal descritas por G' y G'' en función del porcentaje de deformación. De acuerdo a lo antes mencionado, éste comportamiento se puede explicar de la siguiente manera: cuando se aplica esfuerzo a niveles bajos de deformación no sólo se origina un pequeño estiramiento molecular, que aumenta la distancia intermolecular (característica básica de un material elástico), sino que además, la humedad permite un pequeño deslizamiento molecular con reacomodo planar (característica básica de un material plástico), es decir, al buscar la estabilidad, cada molécula recorre uno o más espacios al mismo tiempo, permitiendo a la matriz proteica relajarse.

Las concentraciones de calcio y fósforo en forma insoluble son importantes en la modulación de la estructura, textura y funcionalidad del queso (Lucey y Fox, 1993). La presencia de calcio dirige a fuertes interacciones proteína-ión-proteína dentro de la

matriz del queso durante su elaboración. El calcio que no es removido por la operación de lavado en la elaboración del queso tipo Manchego mexicano, forma parte importante de la estructura del queso. Según Fennema (2000) el calcio contribuye vía interacciones proteína-ión (interacciones electrostáticas) a estabilizar la estructura proteica cuaternaria de la caseína y la matriz proteica reaccionan entre si con el agua por sus enlaces peptídicos (dipolo-dipolo, enlaces hidrógeno) o por las cadenas laterales de los aminoácidos (interacción con los grupos ionizados, polares e incluso no polares). El incremento del esfuerzo en G' y G'' en el queso tipo Manchego mexicano versión "normal" así como, el esfuerzo en G' , en el Cheddar de Rosenberg *et al.* (1995), posiblemente sea dirigido por una densa agregación después de que el gel ha sido formado, ayudado por su capacidad reguladora de pH y conversión del fosfato de calcio coloidal a calcio ligado, dirigiendo a interacciones electrostáticas Ca^{+2} -proteína, catalizadas por el cuajo, ayudando a la colisión de micelas de caseína, que por consecuencia, dirigen a una más amplia agregación de la red proteica del queso, expulsando agua y haciendo la estructura más firme, debido a que predominan los enlaces de interacciones electrostáticas y su fuerza involucrada es mayor a la de enlaces dipolo-dipolo o enlaces hidrógeno. Por el contrario, la pérdida de fosfato de calcio coloidal (soluble) y parte del calcio ligado (insoluble) por la sustitución de suero por agua en la operación de lavado de la cuajada del queso tipo Manchego versión pasta lavada, incrementa la carga de repulsión entre caseínas y esto dirige a una matriz proteica débil (menos firme), debido a que predominan los enlaces dipolo-dipolo y enlaces de hidrógeno que involucran una menor fuerza de atracción,

Otro factor importante en las propiedades mecánicas del queso es el pH. Creamer y Olson (1982) demostraron que el incremento del pH (de 4.9 a 5.15) disminuye ligeramente el esfuerzo en el queso Cheddar, pero el incremento a un pH de 5.4 fue más notable la disminución del esfuerzo. Por el contrario, en quesos con bajo pH, la repulsión electrostática entre moléculas de caseína es grandemente reducida debido a la proximidad del sistema al punto isoelectrico de la caseína, lo cual, fortalece los enlaces entre moléculas de caseína, que dirigen a una densa agregación de la matriz caseica del queso (Lucey *et al.*, 2003). La capacidad reguladora del queso está dada por la caseína y el fosfato de calcio. El fosfato de calcio coloidal si no es removido por la operación de lavado de la cuajada, tiene la capacidad de convertirse a calcio ligado y de ésta manera contribuir en la textura del queso (Lucey y Fox, 1993). Las interacciones del calcio con las moléculas de caseína dentro de la matriz proteica ocurren cuando los iones de calcio cargados positivamente se asocian con regiones de las caseínas cargadas negativamente. Esto puede dirigir a la neutralización de cargas de repulsión entre caseínas y debido a la naturaleza divalente del calcio, puede contribuir a tender un puente entre proteínas y a una más fuerte agregación de la matriz proteica (Pastorino *et al.*, 2003a). El pH está correlacionado con el contenido de calcio residual en el queso. Típicamente, quesos con pH más alto tienen mayor contenido de calcio en comparación con los quesos con más bajo pH (Pastorino *et al.*, 2003b). Sin embargo, esto no sucede en los quesos de pasta lavada, debido a que el lavado de la cuajada incrementa el pH pero disminuye el contenido de calcio del queso. De acuerdo a lo expuesto por Lucey y Fox (1993), y los resultados obtenidos, diremos que la capacidad amortiguadora de pH del queso de pasta lavada es incierto, ya que por un lado se remueve lactosa y ácido láctico, reduciendo las posibilidades de disminución de pH; por el otro lado, se remueve fosfato de calcio, que

es uno de los principales amortiguadores de pH del queso. Por lo que no es claro, como actúa el pH del queso de pasta lavada en el comportamiento reológico del queso.

La proteólisis en el queso fomenta el debilitamiento de la matriz caseica y reduce el esfuerzo requerido para causar deformación (Creamer y Olson, 1982). Tanto el módulo de pérdida como el módulo de almacenamiento disminuyen con el tiempo de almacenamiento (Rosenberg, 1995; Subramanian y Gunasekaran, 1997b), atribuido a la proteólisis, con repercusiones en la pérdida de integridad de la matriz proteica, debido a la disminución del tamaño de partículas dispersas originadas de los productos caseicos que son solubles al agua y no pueden contribuir con la red proteica causando que la viscosidad y elasticidad del queso disminuya. Como ya se menciono el lavado de la cuajada reduce el contenido de calcio y fósforo del queso. Upreti *et al.* (2006), reportaron que, los quesos Cheddar elaborados con bajo contenido de calcio (0.53%), fósforo (0.39%), lactosa (0.78%) y baja proporción de sal/humedad (4.8%), exhibieron altos niveles de proteólisis comparado con sus correspondientes altos niveles (0.67%, 0.47%, 2.4% y 6.4% respectivamente). La sustitución de suero por agua en la operación de lavado de la cuajada en la elaboración del queso tipo Manchego de pasta lavada incrementa la pérdida de calcio y fósforo que disminuyen las interacciones proteína-ión y aumentan los enlaces secundarios, que por consecuencia, dirigen a una matriz proteica débil (menos firme), debido a que predominan enlaces de menor fuerza de atracción (enlaces secundarios), coadyuvado por la poca disminución del pH (>4.9). Esto provoca que los valores de esfuerzo tanto para G' y G'' disminuyan a una tasa mayor en comparación con el queso tipo Manchego mexicano versión "normal". La tasa de proteólisis mayor presentada por el queso tipo Manchego de pasta lavada

probablemente coadyuve al aumento de los límites críticos de la zona viscoelástica lineal de G' y G'' en función del porcentaje de deformación.

V. CONCLUSIONES

El lavado de la cuajada es una operación post-coagulación que participa de manera importante en la reología y textura del queso tipo Manchego mexicano, siendo el principal factor el porcentaje de sustitución de suero por agua, en comparación con el tiempo de contacto de la mezcla suero/agua, durante el trabajo del grano (cocimiento 35 a 39°C con agitación). El lavado actúa modificando la composición química del queso, principalmente, incrementando el contenido de humedad y propiciando la penetración de NaCl, y por el contrario, disminuyendo componentes solubles (sales minerales, lactosa y proteínas solubles), siendo los más importantes, el calcio y fósforo, ya que ellos son componentes fundamentales que contribuyen en la estructura de la matriz de caseína.

La remoción parcial de lactosa y ácido láctico por el lavado propicia la pobre acidificación tras el prensado, consecuentemente aumenta el pH. La remoción de fósforo indica pérdida de capacidad reguladora de pH, pero no se pudo determinar con exactitud cual es el efecto del pH en la textura de un queso de pasta lavada, ya que por un lado la cuajada pierde lactosa residual, por lo que sus posibilidades de acidificación son minimizadas; y por el otro lado, pierde parcialmente fósforo (principalmente en forma de fosfato de calcio coloidal), el cual es, después de la caseína, el segundo componente del queso con capacidad reguladora, así que su remoción, no explica con claridad el impacto del pH, después del lavado de la cuajada, en la textura y reología del queso.

la disminución de calcio indica pérdida de material de enlace entre caseínas, por lo que cambia, la proporción de enlaces ión-proteína a enlaces proteína-proteína que

reaccionan con el agua en sus enlaces peptídicos (dipolo-dipolo y/o enlaces hidrogeno) o por sus cadenas laterales de los aminoácidos (interacción con los grupos ionizados, polares e incluso no polares), que a su vez propician la desagregación de la matriz proteica, lo cual, expone a las proteínas a la acción de las proteasas del cuajo o coagulante, con aumento en la tasa de proteólisis. Por lo que podemos concluir que, el lavado si acelera la maduración, pero repercute de manera importante en otras características importantes del queso (composición química, textura y reología del queso), de ahí que no sea considerado como un método para acelerar el madurado del queso, sino más bien como un proceso de texturización de la pasta del queso, con repercusiones en el producto final.

El aumento de humedad y pérdida de material de enlace (calcio y fósforo) propician un hinchamiento de la matriz proteica disminuyendo la firmeza y esfuerzos de G' y G'' , proporcionando una mayor deformación en G' y G'' del queso, que por consecuencia, incrementa los valores de los puntos críticos de la zona viscoelástica lineal que hacen al queso tipo Manchego mexicano de pasta lavada más plástico y menos elástico en comparación con su versión "normal" (no lavado), y que probablemente esto permita la diferenciación a nivel sensorial de ambas versiones de queso (pasta lavada vs "normal" no lavado) por los consumidores. Denotándose primero en una firmeza más suave y cohesiva para un queso de pasta lavada, y firme y elástica para un queso no lavado, y que probablemente al ser masticado el queso de pasta lavada presente mayor oposición a ser deformado, debido a su naturaleza más plástica, en comparación con la versión normal "no lavado".

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, J. M. and P. J. Lillford. 2008. Food material science: principles and practice. Springer. 601 pp.
- Aguirre-Mandujano, E., C. Lobato-Calleros y J. Vernón-Carter. 1989. Tecnología para incrementar el rendimiento en la elaboración de queso fresco manteniendo su calidad nutricional mediante la adición de caseinato. Cuadernos de Investigación. Preparatoria Agrícola. UACH.
- Antoniou, K. D., D. Petridis, S. Raphaelides, B. Omar, and R. Kesteloot. 2000. Texture assessment of french cheeses. Journal of Food Science. 65: 168 -172.
- A. O. A. C. 1980. Official methods of analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.
- Azarnia, S., R. Normand, and L. Byong. 2006. Biotechnological methods to accelerate Cheddar cheese ripening. Critical Reviews in Biotechnology. 26: 121 – 143.
- Barnes, H. A., J. F. Hutton and K. Walters. 1989. An introduction to rheology. Elsevier. U.S.A.
- Bourne, M. C. 2002. Food Texture and viscosity: concept and measurement. Academic Press. Second Edition. USA. pp. 182 – 186.

- Bressan, J. A., P. A. Carroad, R. M. Larry and W. L. Dunkley. 1981. Modeling of isothermal diffusion of whey components from small curd Cottage cheese during washing. *Journal of Food Science*. 47: 84 – 88.
- Brinson, H. F. and L. C. Brinson. 2008. *Polymer engineering science and viscoelasticity. An Introduction*. Springer. U.S.A.
- Brown, J. A., E. A. Foeding and C. R. Daubert. 2003. Relationships among rheological and sensorial properties of young cheese. *Journal of Dairy Science*. 86: 3054 – 3067.
- Brummer, R. 2006. *Rheology Essentials of cosmetic and food emulsions*. Springer. U.S.A. 190 pp.
- Bryant, A., Z. Unstunol and J. Steffe. 1995. Texture of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. *Journal of Food Science*. 60: 1216 – 1221.
- Bynum, D. G. and D. M. Barbano. 1985. Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: chemical changes during aging. *Journal of Dairy Science* 68:1- 10.
- Cervantes, F. E., A. Villegas de G., A. Cesín V. y A. Espinoza O. 2006. Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar. In: III Congreso Internacional de la Red SIAL Alimentos y Territorio. 18 – 21 octubre. Universidad Internacional de Andalucía. Baeza Jaen, España. 38 pp.
- Chen, A. H., J. W. Larkin, C. J. Clark and W. E. Irwin. 1979. Textural analysis of cheese. *Journal of Dairy Science*. 62: 901 – 907.

- Chevanan, N. and K. Muthukumarappan. 2007. Effect of calcium and phosphorus, residual lactose, and salt-to-moisture ratio on the melting characteristics and hardness of Cheddar cheese during ripening. *Journal of Food Science*. 72: 168 – 176.
- Creamer, L. K. 1985. Water absorption by renneted casein micelles. *Milchwissenschaft*. 40: 589 – 591.
- Creamer, L. K. and N. F. Olson. 1982. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 47: 631 – 646.
- Davis, C. S. 2002. Statistical methods for the analysis of repeated measurements. Springer. U.S.A.
- Dejmeek, J. and P. Walstra. 2004. Cheese as an ingredient. *In: Cheese, chemistry and microbiology*. 3rd ed. Fox, P. F., P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T. P. Guinee. Elsevier Ltd. U.S.A. pp: 71 - 103.
- El soda, M. and S. Pandian. 1991. Recent developments in accelerated cheese ripening. *Journal of Dairy Science*. 74: 2317 – 2335.
- Farkye, N. Y., S. A. Madkor, and H. G. Atkins. 1995. Proteolytic abilities of some lactic acid bacteria in a model cheese system. *International Dairy Journal* 5:715–725
- Farkye, N. Y. 2004. Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*. 57:91 - 98.
- Fedrick, I. 1987. Technology and economics of the accelerated ripening of Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*. 42:33 – 36.

- Fenelon, M. A. and T. P. Guinee. 2000. Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheese manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal*. 10: 151 – 158.
- Fick, K. R., L. R. Mc Dowell, P. H. Miles, N. S. Wilkinson, J. D. Funt, J. H. Conrad y R. Valdivia. 1979. Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales. Segunda edición. Universidad de Gainesville, Fla. USA.
- Foegeding, E. A., J. Brown, M. Drake and C. R. Daubert. 2003. Sensory and mechanical aspects of cheese texture. 13: 585 – 591.
- Fox P. F. 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*. 72: 1379 – 1400.
- Fox, P. F., J. M. Wallace, S. Morgan, C. M. Lynch, E. J. Niland and J. Tobin. 1996. Acceleration of cheese ripening. *Antonie van Leeuwenhoek*. 70: 2 – 4.
- Fox, P. F. and J. M. Wallace. 1997. Formation of flavor compounds in cheese. *Advances in Applied Microbiology*. 45: 17-85.
- Fox, P. F., P. T. Guinee, T. M. Cogan and P. L. H. McSweeney. 2000. Cheese rheology and texture. *In: Fundamentals of cheese science*. Aspen publisher. U.S.A., pp: 305 - 340.
- Fox, P. F. and P. L. H. McSweeney. 2003. Advanced dairy chemistry. Proteins. Volume 1 part B. Third edition. Kluwer Academic/Plenum Publisher. 1349 pp.

- Fox, P. F. and P. L. H. McSweeney. 2004. Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Cheese: An overview. Volume 1 Third edition. Academic Press. pp: 1-18.
- Geografía Universal. 1983. El mundo del queso. Segunda edición. 3a Editores. México. 88 pp.
- Greenhouse, S. W. and S. Geisser. 1958. An extensional of box's results on the use of the F distribution in multivariate analysis. Ann. Of Mathematical Statistical. 29: 885 – 891.
- Guinee, T. P., M. A. E. Auty and M. A. Fenelon. 2000. The effect of fat content on the rheology microstructure and heat induced functional characteristic of Cheddar cheese. International of Dairy Journal. 10: 277 – 288.
- Guinee, T. P., E. P. Feeney, M. A. E. Auty and P. F. Fox. 2002. Effect of pH and calcium concentration on some textural and functional properties of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science. 85: 1655 – 1669.
- Guinee, T. P. and K. N. Kilcawley. 2004. Cheese as an ingredient. *In*: Cheese, chemistry and microbiology. 3rd ed. Fox, P. F., P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T. P. Guinee. Elsevier Ltd. U.S.A. pp: 400 – 428.
- Gunasekaran S. and M. M. Ak. 2000. Dynamic oscillatory shear testing of foods selected applications. Trends in Food Science & Technology. 11: 115 – 127.
- Gunasekaran S. and M. M. Ak. 2003. Cheese rheology and texture. CRC press. USA.

- Gutierrez-de G., A. y C. Manriquez-P. 1996. Análisis estadístico de medidas repetidas. *Revista Corpoica*. 1: 48 – 51.
- Hennelly, P. J., P. G. Dunne, M. O’Sullivan and D. O’Riordan. 2005. Increasing the moisture content of imitation cheese effects on texture, rheology and microstructure. *European Food Research Technology* 220: 415-420.
- Hort, J., and G. Le Grys. 2001. Developments in the textural and rheological properties of uk Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*. 11: 475 – 481.
- Hsu, H. Y., and W. F. Shipe. 1986. Effects of some chemical and physical treatments on proteolysis in milk. *Journal Dairy Science*. 69:1491–1497.
- Huynh H. and L. S. Feldt. 1970. Conditions under which mean square ratios in repeated measures design have exact F distributions. *Journal American Statistical Association*. 65:1582 – 1589.
- IDF. 2006. Bulletin of the International Dairy Federation. Comprehensive review of scientific literature pertaining to nitrogen protein conversion factors. *International Dairy Federation, Belgium*. 405: 2 – 11.
- ISO. 1992. Sensory analysis. Vocabulary International Organization for Standardization. ISO 5492:1992.
- Jack, F. R., and P. Paterson. 1992. Texture of hard cheese. *Trends in Food Science and Technology*. 3: 160 – 164.

- Joshi N. S., K. Muthukumarappan and R. I. Dave. 2004. Effect of Calcium on Microstructure and Meltability of Part Skim Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*. 87:1975 – 1985.
- Lawrence R. C., H. A. Heap and J. Gilles. 1984. A controlled approach to cheese technology. *Journal of Dairy Science*. 67:1632 – 1645.
- Lawrence R. C., L. K. Creamer and J. Gilles. 1987. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*. 70:1748 – 1760.
- Lawrence R. C., J. Gilles and L. K. Creamer. 1993. Cheddar Cheese and related dry-salted cheese varieties. In: *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Volume 2. Second Edition. Fox P. F. (ed). Chapman & Hall. London. 39 – 82 pp.
- Little R. C., P. R. Henry and C. B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal Animal Science*. 76: 1226 – 1231.
- Lucey J. A. and P. F. Fox. 1993. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review. *Journal of Dairy Science*. 76 : 1714 – 1724.
- Lucey, J. A. 2002. Formation and Physical Properties of Milk Protein Gels. *Journal of Dairy Science*. 85:281 – 294.
- Lucey, J. A., M. E., Johnson and D. S. Hornet. 2003. Perspectives on the basics of rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*. 86: 2725 – 2743.

- Lucey, J. A., R. Mishra, A. Hassan and M. E. Johnson. 2005. Rheological and calcium equilibrium changes during the ripening of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*. 15: 645 – 653.
- Luyten, H. 1988. The rheological fracture. Properties of Gouda cheese. Wageningen Agricultural University, the Netherlands.
- Luyten, H., T. van Vilet and P. Walstra. 1991. Characterization of the consistency of Gouda Cheese: Rheological properties. *Netherlands Milk Dairy Journal*. 45: 55 – 80
- Madadlou, A., A. Khosroshahi, S. M. Mousavi and Z. E. Djomet. 2006. Microstructure and rheological properties of Iranian white cheese coagulated at various temperatures. *Journal of Dairy Science*. 89: 2359 – 2364.
- McMahon, D. J., B. Paulson and C. J. Oberg. 2005. Influence of calcium, pH, and moisture on protein matrix structure and functionality in direct – acidified nonfat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 88: 3754 – 3763.
- McSweeney, P. L. H. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology* 57: 127 – 144.
- McSweeney, P. L. H., P. F. Fox, J. A. Lucey, K. N. Jordan and T. M. Coagan. 1993. Contribution of the indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*. 3: 613 – 634.
- McSweeney, P. L. H. and P. F. Fox. 1997. Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait* 77: 41-76.

- McSweeney, P. L. H., and M. J. Sousa. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait* 80:293–324.
- Mistry, V. V. 2006. Chymosin in cheese making. In: *Food biochemistry and food processing*. (Ed.) X. H. Hui. Blackwell publishing, pp: 241-252.
- Mitchel S. B. 2004. *An introduction to material engineering and science for chemical and materials engineers*. John Wiley and Sons Inc. U.S.A.
- NMX-F-462-1984. Alimentos lácteos queso tipo Manchego. Normas mexicanas. Dirección general de normas. Recopilado por el Programa Universitario de Alimentos (PUAL-UNAM) consultado en <http://www.alimentos.unam.mx/cgi-bin/normas.pl>, el 13 de febrero de 2005.
- Noel, T. S. R. and M. Whitham. 1990. Glass transitions in low-moisture foods. *Trends in Food Science and Technology* 1: 62-67.
- O’Callegan, D. J., and T. P. Guinee. 2004. Rheology and texture of cheese. *In: Cheese, chemistry and microbiology*. 3rd ed. Ed. Fox, P. F., P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T. P. Guinee. Elsevier Ltd. U.S.A. pp: 512 – 540.
- O’Mahony, J. A., J. A. Lucey and P. L. H. McSweeney. 2005. Chymosin – mediated proteolysis, calcium solubilization and texture development during ripening of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 88: 3101 - 3114.

- O'Mahony, J. A., P. L. H. McSweeney and J. A. Lucey. 2006. A model for studying the effects of colloidal calcium phosphate concentration on the rheological properties of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 89: 892 – 904.
- Pastorino, A. J., C. L. Hansen and D. J. McMahon. 2003. Effect of pH on the chemical composition and structure – function relationships of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 86: 2751 – 2760.
- Piska, I., and J. Štětina. 2003. Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. *J. Food Eng.* 61: 551–555.
- Platt, T. B. and E. M. Foster. 1958. Products of glucose metabolism by homofermentative streptococci under anaerobic conditions. *Journal of Bacteriology*. 75: 453–459.
- Pollard, A., F. Sherkat, M. G. Seuret and A. L. Halmos. 2003. Textural changes of natural Cheddar cheese during the maturation process. *Journal of Food Science*. 68: 2001 -2016.
- Rao, M. A. 1999. Rheology of fluid and semisolid foods. Principles and applications. Aspen Publisher Inc. U.S.A. 429 pp.
- Rosenberg, M., Z. Wang, S. L. Chuang and C. F. Shoemaker. 1995. Viscoelastic property changes in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Food Science*. 60: 640 - 644.

- Rowney, M., P. Roupas, M. Hickey and D. W. Evertt. 1999. Factors affecting the functionality of mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* . 54: 94-102.
- Sahin, S. and S. Güllüm. 2008. *Properties of foods*. Springer. U.S.A. p. 72.
- Salvador, T. F. J., 1995. Establecimiento de una técnica para acelerar la maduración en queso madurado semiduro tipo Chapingo. Tesis Ingeniero Agroindustrial. Chapingo México UACH Departamento de Ingeniería Agroindustrial. 60 pp.
- Sanchez-Ponte, M. D. 2003. Acceleration of cheese ripening with heat-shocked lactic starter bacteria. *Revista Científica- Universidad del Zulia Facultad de Ciencias Veterinarias División de Investigación*.
- SAS Library. 2008. Repeated measures ANOVA using SAS PROC GLM. Consultado en http://www.ats.ucla.edu/STAT/sas/library/repeated_ut.htm.
- Slade, L. and H. Levine. 1995. Water and the glass transition – dependence of the glass transition on composition and chemical structure: special implications for flour functionality in cookie baking. *Journal of Food Engineering* 24: 431 – 509.
- Steffe, F. J. 1996. *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press. U.S.A. 428 pp.
- Subramanian, R. and S. Gunasekaran. 1997a. Small amplitude oscillatory shear studies on Mozzarella cheese. Part I. Region of linear viscoelasticity. *Journal of Texture Studies*. 28:633-642.

- Subramanian, R. and S. Gunasekaran. 1997b. Small amplitude oscillatory shear studies on Mozzarella cheese. Part II. Relaxation spectrum. *Journal of Texture Studies*. 28: 643 – 656.
- Szczesniak, A. S. 1963. Objective measurements of food texture. *Journal of Food Science*. 28: 410 – 420.
- SIAP. 2007. Boletín de leche, ene-mar 07. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP-SAGARPA. México. 61 pp.
- Silva, S. G., I. Caro C., O. Briones R., N. González C. y R. Briones R. 1992. Primer curso nacional de fabricación de quesos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Productora Universitaria de Lácteos, Servicios Profesionales. México. 162 pp.
- Smit, Gerrit. 2003. Dairy processing. Improving quality. CRC Press. Boca Raton, FL. USA. 527 pp.
- Sousa. M. J., Y. Ardö and P. L. H. McSweeney. 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*. 11: 327 – 345.
- Tabilo-Munizaga G. and G. Barbosa-Canovas. 2005. Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*. 67: 147 – 156.
- TA Instruments. 2002. Determining the linear viscoelastic region polymers. Rheology solutions. TA Instruments. consultado el 1 de mayo de 2006. En <http://www.tainstruments.com>.

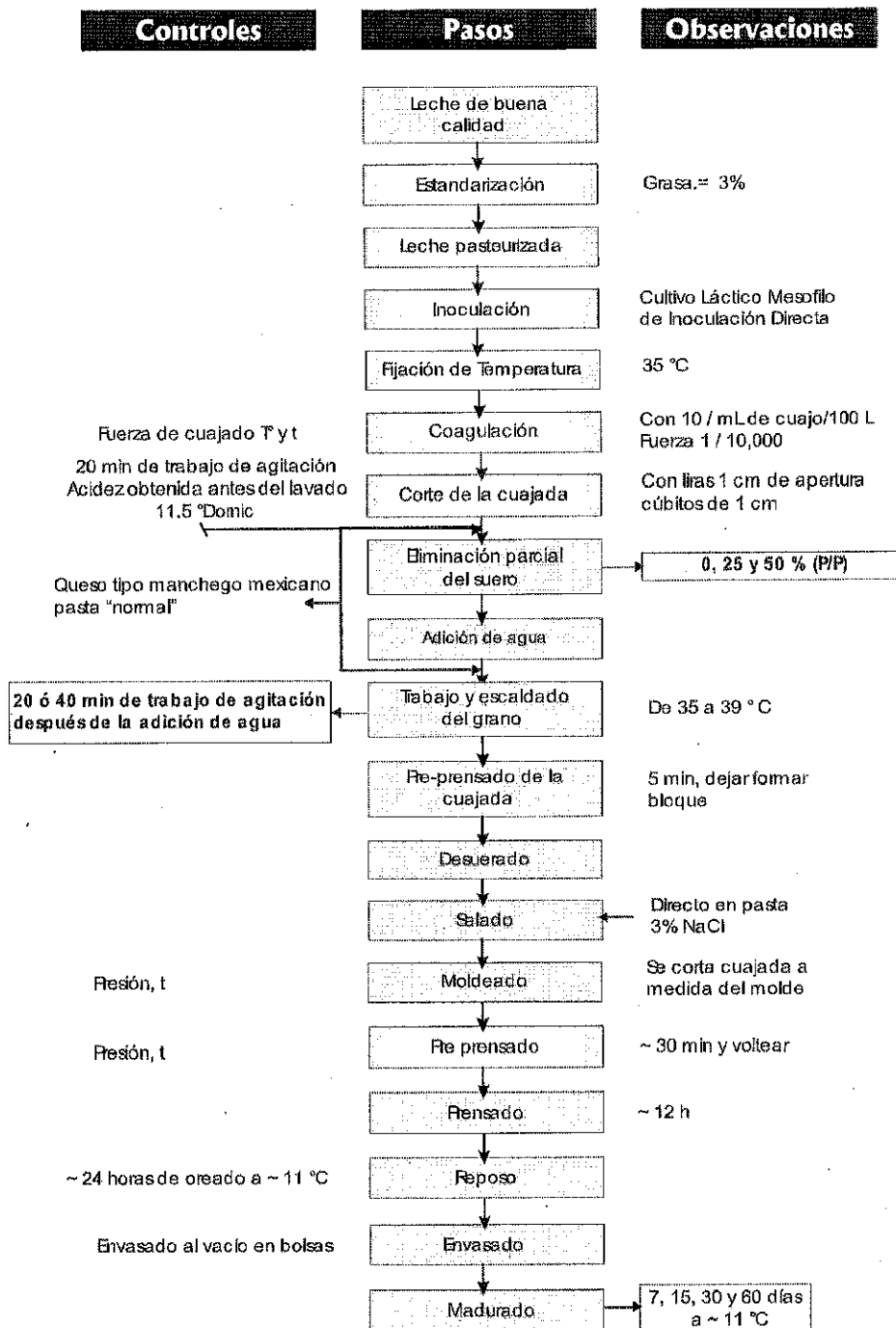
- Tolstoguzov, V. 2008. Food polymers. *In: Food material science: principles and practice*. Ed. Aguilera J. M. and P. J. Lillford. Springer. Pp: 21-44
- Tunick M. H., E. J. Nolan, J. J. Shen, J. J. Basch, M. P. Thompson, B. E. Maleeff and V. H. Holsinger. 1990. Cheddar and Cheshire cheese rheology. *Journal of Dairy Science*. 73: 1671 – 1675.
- Tunick M. H., E.J. Nolan, J. J. Shen and J. Basch. 1993. Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheese prepared from homogenized milk. *Journal of Dairy Science*. 76: 3521 – 3628.
- Tunick M. H. 2000. Symposium: dairy products rheology. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science*. 83: 1892 – 1898.
- Tunick, M. H., D. L. Van Hekken, J. Call, F. J. Molina and A. A. Gardea. 2007. Queso Chihuahua: effects of seasonality of cheesemilk on rheology. *International Journal of Dairy Technology*. 60: 13 – 21.
- Upreti, P. and L. E. Metzger. 2006. Influence of calcium and phosphorus, lactose, and salt-to-moisture ratio on Cheddar cheese quality: Manufacture and composition. *Journal of Dairy Science*. 89: 420 – 428.
- Upreti, P., L. E. Metzger and K. D. Hayes. 2006. Influence of calcium and phosphorus, lactose, and salt-to-moisture ratio on Cheddar cheese quality: Proteolysis during ripening. 89: 444 – 453.
- Veisseyre, R. 1988. *Lactología técnica*. Segunda edición. Ed. Acribia. España. 640 pp.

- Velez-Ruiz J. 2002. Relevance of rheological properties in food processing engineering. *In: Engineering and Food for the 21st century*. Welti J. C., G. V. Barbosa-Canovas and J. M. Aguilera (eds). CRC Press. U.S.A. pp: 322-336.
- Verdini, R. A., and A. C. Rubiolo. 2002. Texture changes during the ripening of Port Salut argentino cheese in 2 sampling zones. *Journal of Food Science*. 67: 1808 - 1813.
- Villegas, A. G. 1993. Los quesos mexicanos. Ed. CIESTAAM-UACH. México. 114
- Villegas, A. G. 2003. Fundamentos de tecnología quesera. Ed. Trillas. México.
- Villegas, A. G. 2004. Los quesos mexicanos de pasta texturizada. Alfa editores. Carnilac. consultado el 20 de agosto de 2006. en [http:// www.alfa-editores.com/historico/carnilac](http://www.alfa-editores.com/historico/carnilac)
- Van den Berg, W. C. Meijer, E. M. Düsterhöft and G. Smit. 2004. Cheese as an ingredient. *In: Cheese, chemistry and microbiology*. 3rd ed. Fox, P. F., P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T. P. Guinee. Elsevier Ltd. U.S.A. pp: 102 – 140.
- Walstra, P., A. Noomen and T. J. Geurts. 1993. Dutch – Type varieties. *In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Volume 2. Second edition. Fox, P. F. (ed). Chapman & Hall. London. 39 – 82 pp.
- Walstra P. and van Vilet T. 1986. The physical chemistry of curd making. *Netherlands Milk Dairy Journal* 40: 241 – 259.
- Walstra, P., Wouters J. T. M. and Geurts T. J. 2006. Dairy science and technology. Second edition. CRC press. 762 pp.

- Watkinson P., C. Coker, R. Crawford, C. Dodds, K. Johnston, A. McKenna and N. White. 2002. Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal*. 11: 455 – 464.
- Wilkinson, M. G. 1993. Acceleration of cheese ripening. *In*: Fox P.F. (ed.) *Cheese: chemistry, physics and microbiology: general aspects*. Vol. 1. Chapman and Hall, London, U. K. pp: 523-555.

VIII. ANEXOS

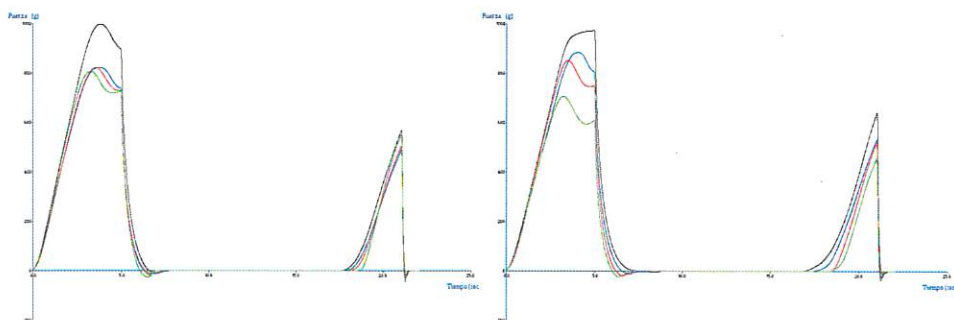
Anexo 1.- Elaboración del queso tipo Manchego mexicano



Anexo 2.- Graficas representativas de los quesos tipo Manchego mexicano pasta lavada y “normal”.

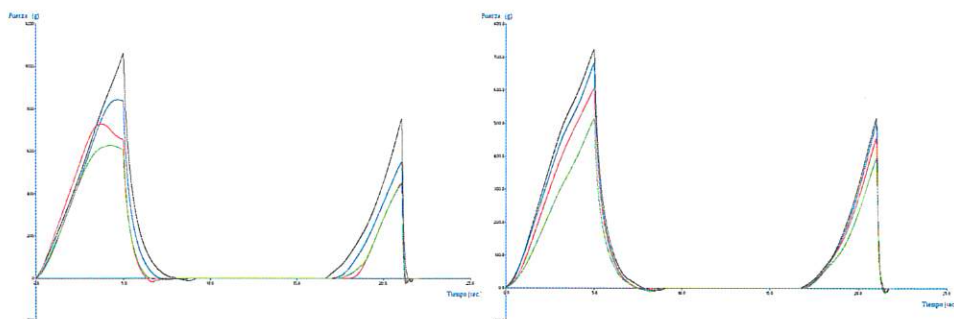
SOP20

SOP40



S25P20

S25P40



S50P20

S50P40

