



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MASTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA
ALIMENTARIA**

**“ELABORACIÓN DE UNA NUEVA
VARIEDAD DE QUESO
APROVECHANDO LAS PROPIEDADES
DEL EXTRACTO DE MAGAYA DE
MANZANA”**

**TRABAJO FIN DE MASTER
POR**

MARTA FERNÁNDEZ GOSENDE

JULIO, 2016



Agradecimientos

Agradezco a la quesería Ca Sanchu (Grado), por proporcionar la leche utilizada en la elaboración de los quesos analizados en este trabajo.

A la bodega Sidra Coro de Villaviciosa, por proporcionar la magaya de manzana.

A mis tutores, Manuel Rendueles y Benjamín Paredes, por su dedicación y ayuda.

A Amanda Laca, por su ayuda en el laboratorio.

Y, por último, agradecer a mi familia y amigos, especialmente a mi hermano.

Resumen

El queso es un alimento con alto valor nutritivo debido a su contenido en grasas, proteínas, vitaminas y minerales. Por otro lado, la magaya de manzana, residuo de la industria sidrera, contiene una gran cantidad de polifenoles, compuestos asociados con efectos beneficiosos sobre la salud, actuando como antioxidantes y anticarcinógenos.

Este trabajo pretende la elaboración de quesos de una textura diferenciada con extracto de magaya de manzana, para comprobar su efecto en las distintas características de los quesos, incluidas las organolépticas. Para ello se elaboraron piezas de queso empleando fermentos de baja acidificación y de *Brevibacterium linens*, así como de extracto de magaya liofilizado, y se realizaron diversos análisis de sus características fisicoquímicas y texturales, además de una evaluación organoléptica y la determinación del contenido de polifenoles en el extracto de magaya de manzana.

Los resultados obtenidos de estos análisis permitieron comprobar el efecto de la adición del fermento de baja acidificación en el desarrollo de microorganismos como *Brevibacterium linens*, el cual da un perfil característico a los quesos en cuanto a textura, sabor, aroma y color, además de la elevada concentración de polifenoles aportados por el extracto de magaya de manzana en el producto final.

Abstract

Cheese is a food with high nutritional value, due to its content in fat, protein, vitamins and minerals. On the other hand, apple pomace, waste from the cider industry, contains a large amount of polyphenols, compounds associated with beneficial effects on health, with antioxidant and anti-cancer properties.

This work aims to the development of several cheeses, with a differentiated texture, with extract obtained from apple pomace, in order to study its effect in some characteristics of the cheeses, including the organoleptic ones. For that purpose several pieces of cheese have been made, using low acidification ferments and *Brevibacterium linens*, as well as apple pomace's extract. Physico-chemical and textural characteristics have been studied, as well as a sensory evaluation of the cheeses and the determination of the content of polyphenols in apple pomace's extract.

The results of these studies allowed to check the effect of the addition of low acidification ferments in the development of microorganisms, such as *Brevibacterium linens*, which gives a characteristic profile in terms of texture, flavour, aroma and colour, in addition to the high concentration of polyphenols found in the final product due to the apple pomace's extract.

Índice

1. Introducción	1
1.1. Objetivos	5
2. Consideraciones teóricas.....	6
2.1. Clasificación de los tipos de queso	7
2.2. Proceso de elaboración de quesos	8
2.3. Maduración.....	14
2.4. Microorganismos implicados en la maduración.....	17
2.5. Técnicas de aceleración de la maduración.....	19
2.6. Polifenoles en manzana	20
3. Metodología	23
3.1. Materias primas	24
3.2. Pruebas preliminares	24
3.3. Elaboración de los quesos	25
3.4. Quesos analizados.....	27
3.5. Elaboración del extracto de magaya	28
3.6. Variables analizadas	28
3.6.1. pH.....	28
3.6.2. Extracto seco.....	29
3.6.3. Grasas	29
3.6.4. Proteínas	31
3.6.5. Textura.....	32
3.6.6. Análisis microbiológico.....	32
3.7. Determinación de polifenoles	33
3.8. Identificación de <i>Geotrichum candidum</i>	33
3.9. Evaluación organoléptica	33
3.10. Análisis estadístico de los datos.....	34
4. Resultados y discusión	35
4.1. Pruebas preliminares: Quesos L y N	36
4.1.1. pH.....	36
4.1.2. Extracto seco.....	37
4.2. Pruebas preliminares: Quesos P y NP.....	38
4.2.1. pH.....	38
4.2.2. Extracto seco.....	39
4.2.3. Textura.....	40
4.3. Quesos M1, M2, B1 y B2.....	40
4.3.1. pH.....	41
4.3.2. Extracto seco.....	42
4.3.3. Grasas	43
4.3.4. Proteínas	44
4.3.5. Textura.....	45
4.3.6. Análisis microbiológico.....	46
4.4. Polifenoles.....	48
4.5. Identificación de <i>Geotrichum candidum</i>	49
4.6. Evaluación organoléptica	51
4.6.1. Parte I	51
4.6.2. Parte II.....	53
5. Conclusiones	55

6. Bibliografía58
Anexo65

Anexo: Cata de queso

Lista de figuras

Página

Figura 1. Esquema general de elaboración de queso.....	9
Figura 2. Quesos elaborados (M1, M2, B1 y B2).....	26
Figura 3. Cuba de cuajado en la elaboración de los quesos.....	26
Figura 4. Corte de la cuajada con las liras.....	27
Figura 5. Cuajada colocada en moldes perforados con gasas.....	28
Figura 6. Extractor Soxhlet utilizado para la extracción de grasas de las muestras de queso.....	30
Figura 7. Texturómetro TA.Txplus (Stable Micro Systems) utilizado para analizar las muestras de queso.....	32
Figura 8. Valores de pH obtenidos para los quesos L y N.....	36
Figura 9. Porcentajes de extracto seco (%) obtenidos para los quesos L y N.....	37
Figura 10. Valores de pH obtenidos para los quesos P y NP.....	39
Figura 11. Porcentajes de extracto seco (%) obtenidos para los quesos P y NP.....	39
Figura 12. Valores de dureza y adhesividad (g) obtenidos para los quesos P y NP.....	40
Figura 13. Valores de pH obtenidos para los quesos M1, M2, B1 y B2.....	42
Figura 14. Valores de extracto seco (%ES) obtenidos para los quesos M1, M2, B1 y B2.....	43
Figura 15. Contenido en grasa (%) en base seca obtenido para los quesos M1, M2, B1 y B2.....	44
Figura 16. Contenido en proteína (%) en base seca obtenido para los quesos M1, M2, B1 y B2.....	44
Figura 17. Valores obtenidos de dureza y adhesividad (g) para los quesos M1, M2, B1 y B2.....	45
Figura 18. Valores obtenidos en el análisis microbiológico del interior de los quesos M1, M2, B1 y B2.....	47
Figura 19. Valores obtenidos en el análisis microbiológico de las cortezas de los quesos M1, M2, B1 y B2.....	48
Figura 20. Curva de calibración de contenido de polifenoles.....	48
Figura 21. Queso M2 recubierto por el hongo <i>Geotrichum candidum</i>	49
Figura 22. <i>Geotrichum candidum</i> aislado en medio Agar Dextrosa Patata a partir de la corteza del queso B1.....	50
Figura 23. Tiras API C 20 AUX utilizadas para la identificación de <i>Geotrichum candidum</i>	50
Figura 24. Intensidad de las características de las muestras M y B en cuanto a color, aroma y sabor.....	52
Figura 25. Intensidad de las características de las muestras M y B en cuanto a los parámetros de	

textura (dureza y pegajosidad).....	53
Figura 26. Porcentajes de preferencia en cuanto a aroma de las muestras 1 y 2.....	53
Figura 27. Porcentajes de preferencia en cuanto a sabor de las muestras 1 y 2.....	54

Lista de tablas

Página

Tabla 1. Características de la leche de vaca utilizada en la elaboración de los quesos.....	24
Tabla 2. Valores de pH y %ES de los quesos L y N. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.....	36
Tabla 3. Valores de pH, %ES, dureza y adhesividad de los quesos P y NP. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.....	38
Tabla 4. Valores de pH, %ES, %Grasas, %Proteínas, dureza y adhesividad de los quesos M1, M2 B1 y B2. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.....	41
Tabla 5. Valores de <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> y mesófilos totales, mohos y levaduras, tanto del interior como de la corteza de los quesos M1, M2, B1 y B2, en UFC/g. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.....	46
Tabla 6. Valores de polifenoles obtenidos en el extracto de magaya de manzana. Se representa la media y desviación típica del contenido de polifenoles (mg/mg extraído).....	49
Tabla 7. Valores de intensidad respecto al color, aroma, sabor, dureza y pegajosidad obtenidos en el análisis organoléptico de las muestras 1 y 2. Se representan las medias de los parámetros evaluados, así como los estadísticos F y los p-valores.....	51

1. Introducción

La leche y sus derivados juegan un papel fundamental en la alimentación humana. Ha sido procesada a lo largo de la historia con el fin de producir leche de consumo limpia, así como para transformarla en productos de larga duración, como es el caso del queso (Ramírez Nolla y Vélez Ruiz, 2012).

Dentro del sector lácteo, los mayores grupos están dedicados a la leche de consumo, producto que proporciona una baja rentabilidad a las empresas, lo que provoca un mayor interés en la producción de derivados lácteos que aportan a la leche mucho mayor valor añadido, como la producción de queso (Espejo Marín, 2001). Además, debido a las propiedades nutricionales del queso, diferentes sectores económicos se han interesado por su estudio (Ramírez Nolla y Vélez Ruiz, 2012).

El queso contiene un alto valor nutritivo debido a su alto contenido en grasa y proteínas, además de ser fuente de minerales, especialmente calcio y fósforo, y vitaminas (Ramírez Nolla y Vélez Ruiz, 2012; Ghada et al., 2002).

Tanto la leche como los productos lácteos pueden proporcionar un porcentaje considerable de la cantidad recomendada diaria de calcio. Éste juega un papel importante en el mantenimiento de los dientes y en la prevención de enfermedades cardiovasculares, osteoporosis e hipertensión, entre otras. Se ha demostrado que el calcio, obtenido a partir de productos lácteos, tiene un efecto importante en la hipertensión, además de jugar un papel fundamental en la prevención de la osteoporosis, cuyo porcentaje de afectados crece cada día más, en especial afectando a mujeres (Ghada et al., 2002). También podría tener efectos beneficiosos sobre la resistencia a la insulina y la dislipidemia (Durán Agüero et al., 2015).

Entre otros componentes saludables presentes en los productos lácteos es posible mencionar el ácido trans palmitoleico, un ácido graso que se ha asociado recientemente con el aumento del colesterol HDL, disminución de los triglicéridos, menor proteína C-reactiva, menor resistencia a la insulina y menor incidencia de diabetes de tipo 2 (Ghada et al., 2002; Durán Agüero et al., 2015).

Aunque el queso es un producto lácteo que contiene una elevada cantidad de grasas saturadas, es posible que no ejerza un efecto negativo ya que posee otros componentes, calcio y otras sustancias bioactivas que pueden modificar los efectos sobre el colesterol LDL y los triglicéridos (Durán Agüero et al., 2015).

Estudios epidemiológicos en humanos han revelado una relación inversa entre el consumo de lácteos y calcio dietario con la obesidad, especialmente con la disminución de grasa corporal (Durán Agüero et al., 2015).

Además, la vitamina K2 presente en los productos lácteos se ha asociado con un menor riesgo de diabetes de tipo 2. Las bacterias prebióticas, también presentes en los productos lácteos fermentados, mejoran el perfil lipídico y el estado antioxidante en individuos con diabetes de tipo 2, y tienen efectos beneficiosos sobre el colesterol (Durán Agüero et al., 2015).

Por otra parte, la presencia milenaria en España de ganado, tanto ovino como caprino, ha hecho de la producción de queso una costumbre entre los españoles (Espejo Marín, 2001). En las regiones del norte de España, dada la elevada producción de leche de vaca, se sitúan importantes industrias queseras, además de queserías artesanales (Espejo Marín, 2001). Por ejemplo, en Asturias existen más de cuarenta variedades de queso diferentes, además de contar cuatro de ellas con Denominación de Origen, como son el Afuega'l Pitu, el Cabrales, el Casín y el Gamonéu. (Turismo Asturias, 2014).

Hoy en día, el consumo medio de queso en España pero cápita supone 7,76 millones de kilogramos de queso (Inlac, n.d.). Los quesos frescos son los más consumidos, suponiendo el 28,5% en volumen, seguidos del semi-curado (22,7%), el queso fundido (12,2%) y otros (Bola, Emmental, Gruyere o queso Azul) con el 21%. (MAGRAMA, n.d.).

El consumo en España está todavía lejos de los parámetros de los principales países de la UE, donde se superan los 15 kg/persona. La evolución del consumo de quesos y su potencial de desarrollo supone una oportunidad de crecimiento para el sector (Inlac, n.d.). En los países en vías de desarrollo, la industria láctea representa una fuente económica importante. Por ejemplo, en Egipto, representa un 35% de la economía del país (Ghada et al., 2002).

Se espera que la producción mundial de los principales productos lácteos (mantequilla, queso, leche descremada en polvo y leche entera en polvo) aumente en todo el mundo en un 23% hacia 2024, en comparación con los años 2012, 2013 y 2014 (OECD/FAO, 2015).

También se espera un crecimiento para el queso de un 2,0% anual. La mayor parte de este crecimiento será satisfecha por exportaciones ampliadas de Estados Unidos de América, Nueva Zelanda, Australia y Argentina, y en especial de la Unión Europea, que se mantendrá como el

principal exportador de queso, representando un 38% de las exportaciones mundiales en 2024 (OECD/FAO, 2015).

Algunas de las tendencias actuales en el mundo de los quesos incluyen la elaboración de productos sin lactosa, pudiendo incorporarse coagulantes y enzimas para su disminución (Silva Rubio et al., 2013). Este mercado se encuentra en auge, ya que los lanzamientos a nivel mundial de este tipo de productos se triplicaron a principios del años 2012, y siguen aumentando (Industria Alimenticia, 2012). Entre otras tendencias se pueden encontrar quesos con bajo contenido en grasa y bajo contenido en sal. Además, se están llevando a cabo puestas a punto de nuevos métodos de elaboración, como en el caso de quesos alternativos que incorporan aceite como sustituto de la grasa de la leche (Silva Rubio et al., 2013).

Por otra parte, las industrias alimentarias generan muchos residuos, algunos de los cuales son potencialmente productos de alto valor añadido para el sector alimentario (Rodríguez Madrera, 2012).

La industria sidrera produce un residuo principal, la magaya, el sólido que resulta del prensado de la manzana para la obtención del zumo. Esta magaya está formada por los restos de pulpa, piel y pepitas de la manzana (Rodríguez Madrera, 2012; Sladana et al., 2005). En España se producen más de 20.000 toneladas de magaya de manzana cada año, y son utilizadas principalmente como componente alimenticio. Actualmente, la producción de pectinas es el único uso a nivel industrial para estos residuos de la industria sidrera (Gullón et al., 2007).

Las manzanas contienen una cantidad importante de diferentes clases de compuestos fenólicos, como por ejemplo los flavonoides, y la magaya también es rica en estos compuestos, entre los cuales destacan la catequina, el ácido cafeico o diferentes quercetinas (Sladana et al., 2005). Estos compuestos fenólicos, que se encuentran naturalmente en frutas y verduras, están recibiendo mucha atención por parte tanto de consumidores como de investigadores, debido a sus efectos beneficios sobre la salud, como antioxidantes y anticarcinógenos (Sladana et al., 2005).

El consumo de frutas y verduras se ha asociado con un menor riesgo de enfermedades crónicas como las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, gracias a su contenido en compuestos fenólicos y otros fitoquímicos (Sladana et al., 2005). La dieta habitual es pobre en estos compuestos, así que la adición de extractos de plantas ricos en polifenoles a diversos alimentos podría mejorar su calidad nutricional (Gramza-Michałowska y Czapka-Matyasik, 2011).

Además, el uso de estos polifenoles como ingredientes alimentarios, suplementos o antioxidantes es muy prometedor para la estabilidad de los alimentos, ya que la actividad de los radicales libres, responsable del deterioro de los alimentos, puede ralentizarse por el uso de estos antioxidantes presentes en tanto frutas como verduras, reforzando la estabilidad oxidativa de los alimentos (Sladana et al., 2005; Gramza-Michałowska y Czlapka-Matyasik, 2011).

Estudios recientes (Gramza-Michałowska y Czlapka-Matyasik, 2011) están investigando la presencia estos antioxidantes en los extractos de frutas, particularmente sus efectos frente a los radicales libres.

1.1. Objetivos

El objetivo de este trabajo es producir una nueva variedad de queso artesano de consistencia blanda, bajo condiciones externas originales, con la adición de magaya de manzana, que le proporcionarán un valor añadido al mismo, utilizando además fermentos de baja acidificación y *Brevibacterium linens*.

Se pretenden evaluar las características fisicoquímicas del queso, además de la presencia de los diferentes microorganismos en las muestras.

Además, se pretende analizar si la adición de esta magaya de manzana tiene alguna influencia en las características fisicoquímicas del queso, así como el poder antioxidante de la magaya de manzana, por sus posibles implicaciones en la salud.

Por último, se realizará una evaluación organoléptica para observar las posibles diferencias en los quesos en cuanto a diversos caracteres sensoriales.

2. Consideraciones teóricas

España destaca por la elaboración de una gran variedad de quesos, cuyo origen se remonta a pueblos nómadas dedicados a la agricultura y a la ganadería. Las primeras evidencias de tales hallazgos se encontraron en la zona de los Pirineos y en la sierra cordobesa de Zuheros. Además, cuenta con una larga tradición quesera, la cual se ve influenciada por las costumbres características de cada zona, además de por su diversidad climática y orográfica (Marqués de Ávila, 2014).

Según el capítulo IX del ANEXO III del Reglamento (CE) 853/2004, queso es el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, que resulta de la coagulación de la leche natural (entera), de la desnatada total o parcialmente, de la nata, del suero de mantequilla, o de una mezcla de algunos de todos estos productos, por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, seguida del desuerado del coágulo obtenido. Este coágulo, llamado cuajada, está constituido de un entramado o “esqueleto” de proteína, la caseína, que retiene la materia grasa y una parte más o menos grande de la fase acuosa de la leche, llamada lactosuero. La masa obtenida puede ser consumida como tal, bajo la categoría de queso fresco o sufrir una serie de transformaciones que le hacen adquirir caracteres organolépticos específicos, constituyendo el queso maduro (MAGRAMA, n.d.).

El queso está compuesto fundamentalmente por agua, grasa, proteínas (caseína y paracaseína), minerales asociados con las proteínas (fosfatos y citratos de calcio) y sales directamente asociadas con las características fisicoquímicas de la leche. Solamente entre el 9% y el 18% del peso de la materia prima utilizada para la elaboración del queso se transforma en producto final, el resto constituye el suero (Ramírez Nolla y Vélez Ruiz, 2012).

2.1. Clasificación de los tipos de queso

Existen diversas clasificaciones en las que se pueden incluir los distintos tipos de queso, como pueden ser según la tecnología empleada, el grado de humedad, el contenido en grasa, el grado de maduración o el tipo de coagulación.

En función de la tecnología utilizada en su elaboración (NOM-243-SSA1-2010; Ramírez Nolla y Vélez Ruiz, 2012) se pueden distinguir:

- I. Quesos frescos, caracterizados por su alto contenido en humedad (mayor al 45%) y por carecer de corteza o presentar una muy fina, pudiendo adicionarse aditivos e ingredientes opcionales.

- II. Quesos de pasta blanda madurados, caracterizados por ser de pasta dura, semidura o blanda, pudiendo tener o no corteza, sometidos a un proceso de maduración mediante adición de microorganismos, bajo condiciones controladas de humedad, temperatura y tiempo, con el fin de provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos, lo que permite prolongar su vida útil.
- III. Quesos procesados, elaborados a partir de mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales, sometidos a procesos térmicos de 70°C durante 30 segundos.

Otra clasificación posible, en función del contenido en materia grasa sobre extracto seco del queso (GES), podría ser (Codex Alimentario):

- I. Queso Extragrasso: si el contenido de GES es superior o igual al 60 %.
- II. Queso Grasso: si el contenido de GES es superior o igual al 45 % e inferior al 60 %.
- III. Queso Semigrasso: si el contenido de GES es superior o igual al 25 % e inferior al 45 %.
- IV. Queso Semidesnatado: si el contenido de GES es superior o igual al 10 % e inferior al 25 %.
- V. Queso Desnatado: si el contenido de GES es inferior al 10 %.

Según las principales características del proceso de maduración de los quesos, éstos se pueden clasificar en quesos madurados, quesos madurados por mohos, no madurados o frescos y en salmuera (Codex Alimentario).

En función del porcentaje de humedad que presentan los quesos, pueden distinguirse entre quesos secos, con porcentajes de humedad inferiores al 40%, o muy húmedos, con porcentajes de humedad en torno al 70% (MAGRAMA, n.d.).

Además, según el tipo de coagulación con el que fueron elaborados los quesos, se pueden distinguir entre quesos elaborados por coagulación ácida, por acidificación hasta que el pH alcanza valores de 4,6; coagulación enzimática, por acción de un enzima proteolítico; o coagulación mixta, debida a la acción conjunta del ácido y del enzima (MAGRAMA, n.d.).

2.2. Proceso de elaboración de quesos

En la transformación de la leche en queso existen dos procesos principales: la obtención de

la cuajada y su maduración (fig. 1). En la fabricación artesanal de queso, la cuajada se obtiene añadiendo el cuajo directamente a la leche cruda, aunque existen en algunas ocasiones procesos de pasteurización. En la fabricación industrial la elaboración es más compleja, debido a los tratamientos térmicos realizados con el objetivo de higienizar la leche (Medina Fernández-Regatillo, 1987).



Figura 1. Esquema general de elaboración de queso.

La preparación de la leche es fundamental para la fabricación de queso, ya que es necesario someterla a una serie de tratamientos, como filtrado, clarificación, o pasterización, tratamiento térmico que destruye los microorganismos perjudiciales que se encuentran en la leche. Sin embargo, el proceso de pasterización también destruye la flora beneficiosa, bacterias lácticas y enzimas que juegan un papel importante en la maduración de quesos elaborados a partir de leche cruda, y por tanto es necesaria su adición posterior (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Estos tratamientos previos transformarán la leche cruda inicial en un producto homogéneo y con unos parámetros óptimos para la elaboración del queso.

En primer lugar, la leche se coloca en recipientes, denominados cubas, que pueden automatizarse para el control de su temperatura (MAGRAMA, n.d.). A continuación se adicionan los fermentos a la leche, bacterias lácticas seleccionadas que constituyen el cultivo primario iniciador (LAB), cuya función principal es la producción de ácido láctico mediante la fermentación de la lactosa, azúcar presente en la leche (Medina Fernández-Regatillo, 1987; Cantor et al., 2004; Garbowska et al., 2016; Wang et al., 2015). Además, facilitan el trabajo del cuajo e intensifican la sinéresis de la cuajada, contribuyendo en el desarrollo de las características del queso durante su maduración. Cantidades excesivas de LABs inducen una mayor producción de ácido láctico en las etapas iniciales del proceso de elaboración del queso, lo que provoca una acidificación excesiva antes de la maduración (Garbowska et al., 2016). Estas bacterias restituirán en parte a los microorganismos beneficiosos que han sido destruidos en la pasteurización (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

El ácido láctico formado promueve la formación y desuerado de la cuajada. Además, evita que crezcan microorganismos patógenos debido a que disminuye el pH a unos valores en torno a 5, y le confiere un sabor ácido (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Los fermentos empleados se clasifican en mesófilos, con un óptimo de temperatura de crecimiento de 20-30°C y termófilos, con un óptimo de 37-45°C, utilizados cuando la temperatura de calentamiento de la cuajada es elevada (45-54°C) (Medina Fernández-Regatillo, 1987). Un cultivo mesófilo típico contiene *Lactococcus lactis* (productores de ácido láctico) y a veces cadenas citrato positivas de *Lactococcus lactis subs lactis* y *leuconostoc*. Por otra parte, los cultivos termófilos están constituidos fundamentalmente por *Streptococcus* (Cantor et al., 2004; Wang et al., 2015).

Opcionalmente se pueden adicionar sales de calcio para restituir las que se perdieron con la pasteurización, ya que el calcio es esencial para la coagulación posterior, y otros aditivos, como la lisozima, para eliminar el crecimiento de bacterias que hinchan los quesos, o lipasas (MAGRAMA, n.d.).

El siguiente paso es la coagulación, en la que se producen una serie de modificaciones fisicoquímicas de la caseína presente en la leche, que conducen a la formación de la cuajada. Tiene lugar debido a la acidificación llevada a cabo por los cultivos iniciadores constituidos por bacterias lácticas previamente añadidos y de la actividad del cuajo (Medina Fernández-Regatillo, 1987). La temperatura y el tiempo que tarde formarse el coágulo varían en función del tipo de queso que se

quiera obtener (MAGRAMA, n.d.).

La coagulación ácida es llevada a cabo por las bacterias lácticas el cultivo iniciador (LABs) y provoca un descenso en el pH de la leche, lo que produce la alteración de la caseína formándose el coágulo (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Por otra parte, la coagulación enzimática se produce al adicionar cuajo a la leche. Este cuajo puede ser tanto de origen animal como microbiano, y se trata de un enzima proteolítico que desestabiliza la caseína, lo que provoca la formación de un coágulo que engloba al suero y los glóbulos grasos (Medina Fernández-Regatillo, 1987). Este proceso se basa en la proteólisis específica de la k-caseína a nivel del enlace peptídico Phe 105-Met 106, produciendo un péptido hidrofílico llamado caseinomacropéptido (CMP) y micelas de paracaseína. En su forma nativa, las micelas de caseína se mantienen en dispersión coloidal estabilizadas en la leche, debido a su carga negativa. Cuando se libera el CMP, la micela se desestabiliza, tras lo cual, a una temperatura mayor de 20°C, y en presencia de iones calcio, la leche empieza a coagular (Fox et al., 2004).

La coagulación de la leche se ve influenciada por diversos factores, entre los que se pueden destacar el pH, los niveles de calcio presentes en la leche, y la temperatura (Food Science, n.d.).

Bajos niveles de pH incrementan la actividad enzimática. Además, las primeras etapas de la coagulación se dan con mayor rapidez a bajo pH (Food Science, n.d.).

El calcio no es esencial en las primeras etapas de la hidrólisis enzimática de la caseína, pero sí en la agregación de las micelas de caseínas, ya que se ha visto que en presencia de bajas concentraciones de calcio esta fase no se produce. De esto se puede deducir que, añadiendo cierta cantidad de cloruro de calcio a la leche, se induce la coagulación instantánea (Food Science, n.d.).

Por otro lado, la temperatura también juega un papel importante. La temperatura óptima de coagulación para la mayoría de los quesos se encuentra entre los 30-32°C. A una temperatura menor de 30°C, el gel que se forma es débil y presenta dificultad para ser cortado, y a una temperatura menor de 20°C no se produce la coagulación, pero sí se produce la hidrólisis de la caseína, por lo que al aumentar la temperatura la leche sí podría coagular (Food Science, n.d.).

En los quesos frescos, cuya coagulación es de tipo láctica, se añaden pequeñas cantidades de cuajo a temperaturas bajas, de entre 15-20°C, para facilitar el desuerado (Medina Fernández-

Regatillo, 1987).

En los quesos de coagulación enzimática, como el Gruyere, se añaden cantidades de cuajo mayores a temperaturas entre 30-35°C para acelerar la formación de la cuajada (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

En los quesos de coagulación mixta, como el Camembert, se adiciona el cuajo a una temperatura intermedia (28-32°C), permitiendo así el desarrollo óptimo de los fermentos lácticos (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Una vez obtenida la cuaja se procede al desuerado, que consiste en la separación del lactosuero del coágulo, parte líquida de la cuajada que contiene casi la totalidad de lactosa y algunos restos de otros componentes de la leche, obteniéndose la parte sólida que constituye la cuajada (Anónimo, 2000).

Las condiciones de coagulación determinan y condicionan el desuerado, ya que las distintas acciones que se pueden llevar a cabo para la eliminación del lactosuero dependerán de la firmeza y cohesión del coágulo. De esta manera se logrará una humedad determinada para cada tipo de queso, que influirá posteriormente en el crecimiento de microorganismos y en la maduración del queso (MAGRAMA, n.d.).

Para permitir la salida del lactosuero es preciso recurrir a acciones mecánicas; el cortado y el removido. El cortado de la cuajada consiste en la división del coágulo en porciones con objeto de aumentar la superficie de desuerado y, por tanto, de favorecer la evacuación del suero. Según el tipo de queso, el cortado es más o menos intenso y se efectúa utilizando liras, manuales o mecánicas (Anónimo, 2000). El cortado de la cuajada debe realizarse lentamente para no deshacerla, ya que así se dificulta el desuerado debido a la formación de granos irregulares. Si el cortado es fino, se promueve el desuerado, que va influir en la textura final del queso, así como si se prolonga la agitación de la cuajada o se aumenta la temperatura de cocción (Medina Fernández-Regatillo, 1987; Crosa et al., 2008).

El removido de la cuajada se realiza con el objetivo de acelerar el desuerado e impedir la adherencia de los granos. Se efectúa mediante agitadores manuales o mecánicos (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Una vez obtenida la masa desuerada, ésta se coloca en moldes calados que le darán la forma al queso. Los moldes, que suelen ser de diversas formas y materiales en función del tipo de queso, generalmente están perforados para facilitar la separación del suero, que se elimina por gravedad. Esta etapa confiere al queso su forma definitiva (Anónimo, 2000).

También se puede realizar un prensado de las masas de queso en los moldes. Se ejerce una presión determinada que varía para cada tipo de queso, así como la duración de la aplicación de la misma (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

El salado de los quesos tiene como objetivo regular el desarrollo microbiano, suprimiendo bacterias indeseables y controlando el crecimiento de los agentes de maduración. También contribuye a la pérdida de suero que continúa tras el desuerado, potencia el sabor de la masa, actúa sobre la actividad de las enzimas que participan en su elaboración, modifica la hidratación de las proteínas, interviene en la formación de la corteza y puede potenciar o enmascarar el sabor de determinadas sustancias que aparecen a lo largo del proceso. Durante el proceso de elaboración del queso, el cloruro de sodio es incorporado a través de la inmersión en baño de salmuera o directamente en la masa (Medina Fernández-Regatillo, 1987; Minetti et al., 2002; Anónimo, 2000).

Si bien hay variaciones en el contenido de cloruro sódico en los distintos tipos de quesos, la mayoría presentan una concentración que varía entre el 1 y 2 %. Las normas internacionales publicadas en el Codex Alimentario no indican específicamente la cantidad de cloruro de sodio que debe contener un alimento determinado (Minetti et al., 2002).

Tras estas etapas, los quesos obtenidos se trasladan a cámaras especiales de oreado, con una temperatura y humedad ambiental de 13-15°C y un 75% de humedad relativa, respectivamente. El oreado tiene como función principal secar la superficie del queso para permitir la formación de la corteza. En esta etapa, los quesos se suelen voltear a diario para que los gases producidos en su interior se distribuyan uniformemente. En el caso de quesos con cortezas mohosas o blandas esta fase no es imprescindible (MAGRAMA, n.d.)

Finalmente, la última etapa en el proceso de elaboración de quesos es la maduración.

2.3. Maduración

La maduración del queso es un proceso mediante el cual la cuajada, que antes de iniciarse la maduración, presenta una capacidad, volumen y forma determinadas y suele ser ácida debido a la presencia de ácido láctico (Medina Fernández-Regatillo, 1987) se transforma en una masa homogénea con sabor, textura y aroma característicos (Sánchez Ponte, 2003). La composición básica y la estructura de los quesos está determinada por la elaboración de la cuajada, pero durante este periodo se desarrollan las características únicas de cada variedad, influenciadas por la composición de la cuajada y otros factores, como la microflora establecida durante la elaboración o durante la maduración. Exceptuando los frescos, todos los demás tipos de quesos presentan esta etapa (Shakee et al., 2001).

Durante la maduración, los quesos sufren una serie de cambios bioquímicos, que llevan al desarrollo de unos determinados sabores y aromas, esenciales para la cualidad sensorial de los quesos, además de pérdida de agua y difusión de sal (Shakee et al., 2001; Mulas et al., 2016). Este proceso complejo de maduración incluye tres etapas principales (proteólisis, lipólisis y glucólisis), llevadas a cabo por la acción de proteinasas presentes en la leche, las enzimas coagulantes, los cultivos iniciadores y otros microorganismos que se desarrollan en el queso (Sánchez Ponte, 2003).

La glucólisis consiste en la fermentación de lactosa a ácido láctico, pequeñas cantidades de ácido acético y propiónico, CO₂ y diacetilo, llevada a cabo por las bacterias lácticas (Medina Fernández-Regatillo, 1987). Comienza durante la coagulación y el desuerado y se prolonga hasta la desaparición casi completa de la lactosa (González Villarreal, 2002).

En quesos blandos madurados por mohos, éstos últimos son responsables del metabolismo del ácido láctico. En quesos tipo Gruyère, de coagulación enzimática, el ácido láctico se transforma en propiónico, acético y CO₂ (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

La proteólisis es uno de los procesos más importantes de la maduración que interviene en el sabor, el aspecto y la textura del producto final. Este proceso no es siempre uniforme en toda la masa del queso, pudiendo ser más intenso en la superficie que en el interior (Medina Fernández-Regatillo, 1987). La proteólisis, llevada a cabo mediante la acción de proteasas, influye directamente en el aroma y en el sabor del queso a través de la producción de péptidos cortos y de aminoácidos, algunos de los cuales producen amargor (por hidrólisis de la β -caseína) y mediante la liberación de aminoácidos libres (FAA), que son sustratos para una serie de reacciones catabólicas

que generan diferentes sabores y aromas (Delgado et al., 2015). Se ha observado un incremento en la proteólisis cuando los mohos aparecen en los quesos transcurridas de dos a cinco semanas de maduración, dependiendo de la variedad (Cantor et al., 2004).

Por último, la lipólisis constituye la etapa en la que se hidrolizan las grasas, mediante la acción de lipasas, y se ha visto que probablemente las levaduras afectan a este proceso (Cantor et al., 2004). Los ácidos grasos liberados y sus productos de transformación influyen decisivamente en el aroma y sabor del queso (Medina Fernández-Regatillo, 1987). En general, el nivel total de ácidos grasos libres se incrementa durante la maduración, produciéndose una disminución al final de la misma, debida a la transformación de los ácidos grasos en metil ketonas. Debido a la mayor concentración de NaCl de la corteza, que inhibe el crecimiento de los mohos y la producción de lipasa, se ha observado un nivel más bajo de ácidos grasos libres en las partes externas del queso, en comparación con el interior (Cantor et al., 2004).

Los ácidos orgánicos aparecen como resultado de la lipólisis, y contribuyen al sabor de los quesos, por lo que son fundamentales para su calidad. Estos ácidos orgánicos también pueden proceder de los procesos metabólicos o del crecimiento bacteriano (Cantor, 1992).

El grado de maduración y de las características organolépticas desarrollados dependerán de varios factores, entre los cuales se incluyen la humedad y el contenido en grasa del queso, la acción de las proteasas y las lipasas derivadas del cuajo, las especies de las bacterias iniciadoras, la microflora de la superficie o del interior del queso, y la humedad, temperatura y tiempo de maduración (Cantor et al., 2004).

La etapa de maduración es fundamental para lograr un producto de máxima calidad, por lo que el tiempo que dura la maduración es esencial y varía según el requerimiento de cada variedad (Anónimo, 2000). La maduración de la gran mayoría de los quesos de coagulación enzimática varía desde unas pocas semanas hasta uno o dos años (Shakee et al., 2001). El estado de maduración del queso determina la calidad y el valor económico del producto final, por lo que una maduración más larga supone un aumento en el precio (Mulas et al., 2016). Al final de esta etapa, el queso tendrá un sabor y una textura característicos (Anónimo, 2000).

En esta etapa de maduración, la temperatura y la humedad son muy importantes y es vital su control, ya que el tamaño y forma del queso están ligados al tipo de maduración y a las condiciones de temperatura y humedad a las que se encuentra durante este periodo (Sánchez Ponte, 2003).

Además, la temperatura regula el desarrollo microbiano y la actividad enzimática. La temperatura óptima para el desarrollo de la flora superficial del queso es de 20-25°C, mientras que las bacterias lácticas mesófilas proliferan más rápidamente a 30-35°C, y las termófilas, a 40-45°C (Medina Fernández-Regatillo, 1987). En los quesos de pasta blanda el proceso de maduración se realiza en cámaras de frío, a una temperatura de entre 5 y 8°C (Sánchez Ponte, 2003).

Las distintas condiciones fisicoquímicas, como la presencia de oxígeno, el contenido en agua o el pH, influyen sobre la actividad microbiana y enzimática, responsables de la maduración del queso.

El oxígeno condiciona el desarrollo de la flora microbiana aerobia o anaerobia facultativa. La aireación asegurará las necesidades de oxígeno de la flora superficial de los quesos (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

El agua también juega un papel fundamental, ya que es el medio en el que las distintas reacciones tienen lugar durante la maduración. Además, interacciona con la matriz del queso, contribuyendo a su textura y estabilidad (Mulas et al., 2016). Tanto la concentración de NaCl como la lipólisis y la proteólisis, y especialmente el incremento de los péptidos de bajo peso molecular, influyen en la actividad de agua del queso. Además, el contenido en grasas influye en la estructura de los quesos y, por tanto, en la difusión de NaCl y en el equilibrio de la actividad de agua a lo largo del queso (Cantor et al., 2004). La humedad también favorece el desarrollo microbiano, de manera que las cuajadas con mayor contenido en humedad presentan un periodo de maduración menor (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

El pH condiciona el desarrollo microbiano, interviene en la determinación del sabor y tiene relación con la textura, determinada por el grado de proteólisis, siendo ésta más extensa a valores de pH altos (Pianta et al., 2004).

La evolución del pH durante la maduración es diferente para cada tipo de queso (Pianta et al., 2004). Normalmente, al final del desuerado los valores de pH varían entre 4,7 y 5,5 en la mayoría de los quesos (Medina Fernández-Regatillo, 1987), incrementándose durante la maduración en los quesos de pasta blanda hasta valores próximos a 7. En las primeras etapas de elaboración del queso los niveles de pH son bajos, debido a la pérdida de lactosa y a la producción de ácido láctico (Pianta et al., 2004). Posteriormente, las levaduras desacidifican el queso mediante el metabolismo del ácido láctico y lactato, que se convierte en CO₂ y H₂O, y mediante la

desaminación de los aminoácidos y la producción de NH₃. Esto lleva al incremento en los valores del pH en el queso (Zhang et al., 2013).

Los quesos blandos, como el Port Salut, con un alto contenido en agua, sufren períodos cortos de maduración. La etapa de maduración es decisiva en estos casos, y en ningún caso inferior a 30 días (Anónimo, 2000). Estos quesos se mantienen en condiciones que favorecen el crecimiento de microorganismos en su superficie, tanto mohos (*Penicillium camemberti* en Camembert) como bacterias (*Brevibacterium linens* en Limburger). Los enzimas producidos por estos microorganismos se difundirán hacia el interior del queso, de manera que la maduración progresa en esa dirección (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Por el contrario, los quesos duros maduran en condiciones que evitan el crecimiento superficial de microorganismos y disminuyen la actividad en el interior. En estos casos, la maduración se trata proceso lento y uniforme en todo el queso (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

En los quesos azules, los microorganismos son inicialmente los responsables de los cambios producidos en el interior del queso. Posteriormente se favorece la penetración de aire al interior del queso, introduciéndose mohos como *Penicillium roqueforti*, responsables del sabor y aspecto característicos de estos quesos (Medina Fernández-Regatillo, 1987).

2.4. Microorganismos implicados en la maduración

Los cultivos primarios LAB son los más importantes en la maduración de la mayoría de los quesos. Estas bacterias producen CO₂ y abren la estructura del queso para facilitar la penetración del aire y el desarrollo de mohos (Cantor et al., 2004).

Además de los cultivos primarios LAB, otros microorganismos tienen influencia en la maduración de los quesos, como las bacterias lácticas no iniciadoras y las levaduras (Cantor et al., 2004).

Las bacterias lácticas no iniciadoras (NSLAB) se pueden hallar en una serie de variedades de quesos durante la maduración, siendo las más comunes *Lactobacillus* (Cantor et al., 2004).

Las levaduras forman una parte importante de la microbiota de la superficie durante la

maduración de los quesos, y se desarrollan espontáneamente durante la elaboración, maduración y almacenamiento de los quesos, debido a su tolerancia en condiciones de bajo pH, elevadas concentraciones de sal y bajas temperaturas. Además, altas concentraciones de lactato, carbohidratos residuales no fermentados y pequeñas cantidad de ácidos cítrico y acético permiten el crecimiento y la supervivencia de algunas especies de levaduras (Cantor et al., 2004).

En el interior de los quesos las levaduras no se ven alteradas por el proceso de salado durante las primeras etapas de la maduración, debido a la lenta difusión de la sal desde la superficie hasta el interior de los quesos. Las levaduras se empiezan a multiplicar en la superficie de los quesos después de un periodo corto de adaptación, paralelamente a su desarrollo en el interior del queso, pero en un número 100 veces más bajo que en la superficie, debido a los bajos niveles de oxígeno y el alto nivel de CO₂, que inhiben el crecimiento de las levaduras (Cantor et al., 2004).

La levadura *Geotrichum candidum* es una de las poblaciones de hongos responsables de los cambios que ocurren en la cuajada durante la maduración de los quesos blancos de pasta blanda. Está involucrado en el desarrollo de la textura y del aroma y el sabor a través del catabolismo del ácido láctico y la liberación de amoníaco, lo que da lugar a la acidificación de la cuajada (Cantor et al., 2004).

Existen otros organismos que se utilizan habitualmente en la elaboración de quesos de pasta blanda, como *Penicillium roqueforti*, que en quesos azules contribuye al desarrollo del color, aromas y sabores (Cantor et al., 2004).

Así mismo, pueden colonizar y crecer otros microorganismos contaminantes en los quesos, especialmente en la superficie de los mismos. La causa de que muchos quesos se desperdicien se debe principalmente al crecimiento de hongos, lo que provoca la formación de sabores y aromas desagradables, micotoxinas y, en muchas ocasiones, descoloración. Algunos de los hongos contaminantes más importantes en los quesos semi-suaves son *Penicillium spp* y *Geotrichum candidum* (Cantor et al., 2004).

Por otra parte, *Brevibacterium linens* ha sido ampliamente reconocida como un importante microorganismo en queserías debido a su presencia en la superficie de quesos madurados, como Limburger, Munster, Brick, Tilsiter, Appenzeller y otros quesos artesanales (Rivas Ochea, 2002).

Los representantes del género *Brevibacterium* muestran un ciclo como cocos–bacilos Gram-

positivos cuando se cultivan en medios complejos. Durante la fase exponencial las células presentan forma de bastón, pero en la fase estacionaria de crecimiento tienen forma cocoide (Rivas Ochea, 2002).

Las bacterias del género *Brevibacterium spp.* son inmóviles, no forman endosporas y están presentes en diversos hábitats, aunque especialmente en los que se dan altas concentraciones salinas. Además, su temperatura de crecimiento óptima oscila entre 20 y 37°C, su pH de crecimiento óptimo se encuentra entre 7 y 8 y son aerobios obligados (Rivas Ochea, 2002).

Brevibacterium linens posee además un sistema proteolítico activo que está involucrado en la maduración del queso (Pachlová et al., 2015) y se piensa que su presencia es un requisito esencial para el desarrollo del color, aroma, sabores, y textura de quesos como Munster, Livarot y Limburger, así como de la coloración roja amarronada de la superficie de algunos Brie y Camembert (Zhang et al., 2013; Cantor et al., 2004), debido a su actividad proteolítica, mediante la acción de proteasas extracelulares (Shabbiri et al., 2012), y a la producción de componentes de aromas y sabores a través del metanotiol, un compuesto sulfuroso que ofrece un sabor característico a los quesos madurados (Rivas Ochea, 2002).

Otra bacteria presente en la superficie de estos quesos es *Debaryomyces hansenii*. Esta bacteria puede oxidar el ácido láctico y elevar el pH hasta alcanzar unos niveles adecuados para permitir el crecimiento de *B. linens* (Zhang et al., 2013).

2.5. Técnicas de aceleración de la maduración

Existen diversas técnicas para acelerar el proceso de maduración y disminuir así los costes de operación y almacenamiento (Periago Cerdanyola del Vallès, 2002). Entre éstos, destacan el aumento de la temperatura de almacenamiento de los quesos y la adición de enzimas exógenas o cultivos iniciadores atenuados.

Las enzimas añadidas, tales como proteinasas y peptidasas, durante la fabricación del queso incrementan la proteólisis. Sin embargo, esto puede presentar ciertas desventajas, ya que se pueden desarrollar sabores amargos debido a la liberación de péptidos, además de un ablandamiento en la textura del queso, provocado por la intensificación de la hidrólisis de las caseínas (Sánchez Ponte, 2003).

Se han observado buenos resultados tras la adición de otras enzimas, lipasas, en quesos cuyo sabor está influenciado por el contenido de ácidos grasos libres de cadena corta, como el Cheddar, el Manchego y los azules tipo Roquefort (Sánchez Ponte, 2003).

Otra técnica consistiría en el aumento del número de bacterias lácticas, mediante la adición complementaria de cultivos iniciadores. Estas bacterias aumentan la proteólisis, considerada el mecanismo más importante en la maduración. Esta técnica ha dado buenos resultados, pero también puede producir un sabor atípico, debido a la producción excesiva de ácido láctico (Sánchez Ponte, 2003).

Dado que la formación de péptidos y aminoácidos durante la maduración del queso contribuye directamente al desarrollo del sabor y la textura del queso, podría ser conveniente la extensión de la proteólisis. Sin embargo, los quesos sometidos a esta técnica frecuentemente exhiben sabores desagradables (Sánchez Ponte, 2003).

Por otra parte, la tecnología de tratamiento de alimentos mediante alta presión isostática es una de las más prometedoras en este campo. Un tratamiento prologando del queso a 50MPa causa una aceleración de la proteólisis durante el tiempo de mantenimiento de la presión, volviendo al ritmo normal cuando se libera la presión. La efectividad de esta técnica es mayor cuanto menor es el tiempo de maduración del queso. Al tratar el queso mediante alta presión se provoca un cambio en la textura y en el color de los quesos, resultando ser menos quebradizos y menos luminosos y de color más intenso (Periago Cerdanyola del Vallès, 2002).

El aumento de la actividad proteolítica en estos quesos se debe a un aumento en la actividad de las peptidasas provenientes del citoplasma de las bacterias lácticas tras su lisis. También se podría atribuir a la mayor permeabilidad de la membrana favorecida por la presión (Periago Cerdanyola del Vallès, 2002).

2.6. Polifenoles en manzana

Las manzanas (*Rosacea Malus sp.*) han formado parte de la dieta desde tiempos antiguos y son una de las frutas más consumidas en todo el mundo, tanto crudas como procesadas en zumos, sidra, licor, mermelada y vinagre (Shoji et al., 2004).

Es la fruta más consumida en Europa, debido a su precio y a los beneficios que aporta para la salud. En el año 2005 el consumo de manzana per capita en Europa era de 61 gramos por día (Ceymann et al., 2012).

Las manzanas son una buena fuente de compuestos fenólicos (Khanizadeh et al., 2008; Lotito y Frei, 2004), así como la magaya de manzana. Contienen 2 gramos de fenoles por kilogramo de peso, aproximadamente 400 mg de fenoles totales por manzana (Shoji et al., 2004), y también poseen una capacidad antioxidante alta, en comparación con otras frutas consumidas comúnmente (Khanizadeh et al., 2008).

Estos compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios de plantas, de los cuales se han identificado miles de compuestos diferentes (Ceymann et al., 2012).

El contenido en polifenoles varía entre diferentes especies e incluso cultivares de manzanas, así como con el estado de maduración, la estación, la región o el terreno en el que fueron cultivadas. Estos polifenoles se clasifican de acuerdo a su estructura como derivados de ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos o lignanos (Lotito y Frei, 2004). Están presentes en una gran cantidad de bebidas, como el vino tinto y el té, así como en diversos alimentos, como el chocolate, las uvas y las manzanas (Shoji et al., 2004).

Las cuatro clases de polifenoles que se encuentran en concentraciones importantes en las manzanas son los flavan-3-oles, ácidos fenólicos, dihidrochalconas que se encuentran solamente en manzanas, como phloridzin y phloretin, ácidos hidroxicinámicos y sus ésteres, antocianidinas y flavonoles, como la quercetina, epicatequina, catequina y procianidina, así como otros compuestos fenólicos, como el ácido clorogénico (Lotito y Frei, 2004; Kahle et al., 2011; Ceymann et al., 2012). La concentración de cada una de estas clases de polifenoles es diferente en función de la variedad de manzana estudiada (Kahle et al., 2011).

Las procianidinas representan la clase más abundante (entre un 40 y un 89%), seguidas de los ácidos hidroxicinámicos, dihidrochalconas, flavonoles, antocianidinas, y flavan-3-oles. Las antocianidinas contribuyen al color rojo de las manzanas, y se encuentran exclusivamente en la piel, así como la quercetina (Khanizadeh et al., 2008).

Normalmente, la concentración total de compuestos fenólicos es mayor en la piel que en la pulpa de la fruta. Además, la distribución de estos compuestos varía considerablemente entre los

tejidos. Esto es debido a que la genética juega un papel importante en la composición de polifenoles, tanto de manzanas como de otras frutas (Khanizadeh et al., 2008).

El contenido y la composición de los polifenoles presentes en las manzanas también son importantes debido a su contribución a la calidad sensorial de tanto de la fruta fresca como de los productos procesados de la misma. Cuando se seleccionan los cultivares para la producción de la sidra, se presta especial atención al contenido de polifenoles y a su perfil, ya que contribuyen al color y al amargor de las manzanas. Algunos polifenoles como los ácidos hidroxicinámicos son precursores de compuestos volátiles que contribuyen al aroma de la sidra. Otros polifenoles también contribuyen al oscurecimiento de las manzanas y de sus productos (Khanizadeh et al., 2008).

Los potenciales beneficios de los polifenoles han sido estudiados por diversos autores en numerosos estudios *in vitro* y en animales de laboratorio, mostrando una alta capacidad antioxidante, reduciendo el daño oxidativo celular e inhibiendo la peroxidación lipídica (Kahle et al., 2011). Algunos de los polifenoles encontrados en manzanas, como los flavan-3-oles y el ácido clorogénico, se han investigado por sus efectos beneficiosos en otros alimentos. Los flavan-3-oles tienen un efecto vasodilatador que mejora el flujo sanguíneo y el ácido clorogénico, por otra parte, presenta efectos beneficiosos en enfermedades cardiovasculares y disminuye el riesgo de padecer diabetes de tipo 2 (Ceymann et al., 2012).

Algunos de los polifenoles hallados en manzanas también podrían tener otras funciones, influyendo en la actividad alérgica, participando de forma activa en la actividad anti-carries e inhibiendo la actividad de algunos enzimas y receptores (Lotito y Frei, 2004).

Los productos vegetales tienen un gran potencial como fuente de polifenoles y sería necesario un conocimiento más detallado de su contenido en diferentes alimentos, para poder evaluar de manera certera sus potenciales beneficios para la salud (Ceymann et al., 2012).

3. Metodología

En este trabajo se procedió a la elaboración de quesos en distintas condiciones. Posteriormente, se analizaron diferentes variables en muestras tomadas de los mismos.

3.1. Materias primas

Para la elaboración de los quesos analizados en este trabajo se utilizó leche de vaca pasteurizada procedente de la quesería Ca Sanchu (Grado). Las características de la leche utilizada en la elaboración de los quesos, en dos ocasiones distintas, se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Características de la leche de vaca utilizada en la elaboración de los quesos.

Leche	Materia grasa	ESM	Proteínas	Células	Bacterias	Punto Crioscópico
07.03.16	3,77	8,89	3,28	168	16	523
13.03.16	3,75	8,95	3,32	182	12	532

Como fermentos para la elaboración de los quesos se utilizó el CHN19 (CHR Hansen), un cultivo mesófilo aromático con bajo poder acidificante. Además, se utilizó *Brevibacterium linens*, BL2 10u (CHR Hansen), incorporado en dos de los quesos elaborados.

El cuajo utilizado fue el CHY-MAX Powder Extra NB (CHR Hansen), compuesto por quimosina, cloruro de sodio y peptona de caseína.

Por otra parte, la magaya utilizada en este trabajo se obtuvo de una bodega de sidra natural asturiana, Sidra Coro de Villaviciosa, en lagar de madera después de tres días de prensado.

3.2. Pruebas preliminares

Se realizaron una serie de pruebas preliminares con el fin de optimizar el proceso de elaboración del queso, además de comprobar la manera más idónea de incorporar la magaya a los quesos que se iban a elaborar.

En primer lugar se incorporó la magaya liofilizada a la leche pasteurizada 12 horas antes de la elaboración del queso. Posteriormente, se filtró esta leche para proceder a la elaboración de los

quesos, con el procedimiento detallado en el punto 3.3. Las cuajadas resultantes se trasladaron a unos moldes de desuerado con agujeros sin tapa. De esta manera se obtuvieron quesos con consistencia dura, además de presentar menor humedad de la deseada.

Durante la etapa de maduración de los quesos se dispuso magaya liofilizada sobre la corteza de uno de los quesos (queso L), y magaya sin liofilizar, natural, sobre la corteza de otro de los quesos (queso N), con el objetivo de verificar qué tratamiento de la magaya daría el mejor resultado.

Con el fin de intensificar tanto el aroma como el sabor de la magaya en los quesos, en la elaboración de los quesos posteriores se procedió a la realización de un extracto a partir de magaya liofilizada, detallado en el punto 3.5.

Además, se modificó ligeramente el método de elaboración del queso, sustituyendo los moldes sin tapa por unos con tapa, aplicando presión, para comprobar el efecto del prensado sobre los quesos elaborados. Esto se realizó mediante la comparación de dos quesos, uno al que se le había aplicado presión mediante una prensa (queso P), y otro queso al que no se le había aplicado presión (queso NP).

Todos los quesos denominados como pruebas preliminares, quesos L, N, P y NP, fueron analizados una semana después de su elaboración.

3.3. Elaboración de los quesos

La elaboración de los quesos, que posteriormente fueron analizados, se realizó a partir de leche de vaca pasteurizada, descrita en el apartado 3.1., utilizándose 14 litros de la misma cada vez, elaborándose dos quesos de aproximadamente 750 gramos cada uno.

Previamente a la elaboración del queso, se valoró la acidez y el pH de la leche, para garantizar que la leche estuviera en condiciones óptimas para su utilización.

En primer lugar se depositó la leche en la cuba de cuajado (fig. 2), a la que se añadieron 0,11 gramos de fermentos lácticos y 0,34 gramos de cuajo. La coagulación se llevó a cabo a una temperatura de 35°C durante 40 minutos.



Figura 2. Cuba de cuajado en la elaboración de las muestras de queso.

Una vez transcurrido este tiempo, se procedió al corte de la cuajada con liras (fig. 3), tras lo cual se dejó reposar cinco minutos. A continuación se realizó el agitado de la cuajada durante 10 minutos y nuevamente se dejó reposar cinco minutos.



Figura 3. Corte de la cuajada con las liras.

Pasado este tiempo, se llevó a cabo el desuerado y el salado de los quesos en la misma cuba, añadiéndose 15 gramos de sal por 750 gramos de cuajada, para a continuación trasladarlos a

moldes perforados con tapa, en los que se habían colocado previamente gasas, aplicándoles presión en la parte superior (fig. 4). Pasadas 48 horas, y tras haber realizado diversos volteos, se trasladaron a la cámara de maduración, con una temperatura y una humedad de 18°C y 80%, respectivamente.



Figura 4. Cuajada colocada en moldes perforados con gasas.

Todos los quesos fueron elaborados siguiendo este procedimiento, excepto el queso M2, al que no se le aplicó presión, y los quesos con extracto de magaya que incorporaban además *Brevibacterium linens* (quesos B1 y B2), en los cuales los tiempos de reposo de la cuajada, tanto después del corte como después del agitado fueron algo mayores (10 minutos). Esto pudo haber ayudado al desuerado posterior en los moldes.

A los quesos que contenían magaya se les realizaron además diversos frotos con el extracto en la corteza superficial durante la etapa de maduración.

3.4. Quesos analizados

Posteriormente se analizaron los quesos elaborados, de los cuales se recogieron muestras para evaluar las variables deseadas tras un periodo de maduración de ocho semanas.

Estos quesos incluyen dos con extracto de magaya (M1 y M2), añadido en la leche fresca antes de la elaboración del queso (50 mL añadidos), y dos quesos con extracto de magaya, a los que

además se añadió la bacteria *Brevibacterium linens* (0,011 gramos) (B1 y B2) (fig. 5).



Figura 5. Quesos elaborados (M1, M2, B1 y B2).

3.5. Elaboración del extracto de magaya

Para la elaboración del extracto de magaya, con el fin de incluirlo en la leche previamente a la elaboración de los quesos correspondientes, además de la realización de los frotos durante su maduración, se pesaron 150 gramos de la misma, previamente liofilizada, mezclándose con 900 mL de agua destilada autoclavada. A continuación se depositó en un baño a 45°C durante una hora y posteriormente se realizó una filtración, seguida de una centrifugación del extracto a 20°C y 10.000 G, durante 15 minutos. Finalmente, se procedió a una última filtración.

3.6. Variables analizadas

3.6.1. pH

Las medidas del pH de los diferentes quesos se analizaron pesando cinco gramos de cada una de las muestras y añadiéndoles 35 mL de agua destilada. Posteriormente, se homogeneizó la mezcla con un agitador a 20000 rpm. Por último, la mezcla homogénea se midió con un pHmetro (Basic 20 Crinson Instruments).

3.6.2. Extracto seco

Para determinar el extracto seco de los cuatro quesos (tanto los quesos con extracto de magaya como aquellos que a los que se les había añadido además *Brevibacterium linens*), se pesaron 20 gramos de arena de mar en pocillos de acero inoxidable, tras lo cual se introdujeron en una estufa a 102°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se introdujeron los pocillos en un desecador durante aproximadamente 30 minutos con el objetivo de eliminar toda la humedad posible. A continuación, se pesaron los pocillos, P0, y a los mismos se añadieron tres gramos de las diferentes muestras de queso, PM. Tras homogeneizar las muestras con la arena de mar se introdujeron los pocillos nuevamente en la estufa a 102°C durante cinco horas. Posteriormente, se trasladaron de nuevo al desecador, y transcurridos 30 minutos se pesaron, PF.

Para el cálculo de la humedad (H) de las muestras, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%H = (((P0 + PM) - PF) / PM) * 100$$

Del cálculo del porcentaje de humedad podemos calcular el porcentaje de extracto seco de cada uno de las muestras de queso, que será:

$$\% \text{Extracto seco} = 100 - \%H$$

3.6.3. Grasas

Para determinar el porcentaje de grasas presente en los cuatro quesos analizados, se siguió un método basado en la extracción Soxhlet (fig. 6), consistente en tres etapas.

La primera etapa consiste en la pre-extracción, para la cual previamente se pesaron tres gramos de muestras de cada uno de los quesos (P1), introduciéndose en una estufa a 102°C durante 12 horas. Pasado este tiempo, se introdujeron las muestras en diversos cartuchos de celulosa, colocándose los mismos en el extractor de grasas. Los pocillos, donde posteriormente se depositará la grasa extraída de las muestras, se pesan (P0) y se les añade 50 mL de dietileter, colocándolos en el extractor. Finalmente, para llevar a cabo la pre-extracción, se sitúa la columna en posición *boiling* durante 30 minutos, y en posición *rinsing* durante 45 minutos, seguidos de diez minutos de evaporación. Por último, se procede a pesar los pocillos con la grasa extraída de las muestras (P2).

La segunda etapa a realizar es la hidrólisis de las muestras. Para ello, se extrajeron las diferentes muestras de los cartuchos de celulosa y se colocaron en matraces en la placa calefactora Kjeldahl, añadiéndose 100 mL de ácido clorhídrico y 0,5 gramos de piedra pómez. Esta hidrólisis se realizó a 150°C durante una hora. Transcurrido este tiempo, se filtraron las disoluciones, utilizando tierra de diatomeas para ayudar a la retención de la grasa en los filtros. Éstos se colocaron por último en la estufa a 102°C durante una hora.

La última etapa consiste en la extracción final, para la cual se introdujeron los filtros en los cartuchos de celulosa, colocándose nuevamente en el extractor Soxhlet. Se repitió el mismo proceso que en la pre-extracción, pesándose los pocillos de extracción vacíos previamente (P0'), pero aumentando los tiempos de *boiling* y *rinsing*, siendo 40 y 60 minutos respectivamente. Por último, se pesaron de nuevo los pocillos con la grasa extraída a partir de las muestras (P2').



Figura 6. Extractor Soxhlet utilizado para la extracción de grasas de las muestras de queso.

El porcentaje de grasa de cada una de las muestras evaluadas se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%Grasa = ((P2 - P0) / PM) * 100 + ((P2' - P0') / PM) * 100$$

3.6.4. Proteínas

El porcentaje de proteínas presente en los diferentes quesos se analizó mediante el método de Kjeldahl. Este método permite averiguar el porcentaje de nitrógeno contenido en una muestra. A partir de este porcentaje de nitrógeno, podremos hallar el porcentaje de proteínas en las muestras de interés.

En primer lugar se efectuó una etapa de digestión, durante media hora y a 420°C, en la que se pesaron 0,5 gramos de muestra de cada uno de los quesos (PM) y se colocaron en la placa calefactora del equipo Kjeldahl, añadiendo 12 mL de ácido sulfúrico al 96% y siete pastillas Kjeldahl catalyst.

Por último, se realizó una destilación de las disoluciones anteriores, seguida de una valoración con ácido clorhídrico 0,1 N, anotándose el volumen gastado del mismo en el viraje de color (T).

De esta manera se obtuvo el porcentaje de nitrógeno contenido en cada una de las muestras, mediante la expresión:

$$\%N = ((T - B) * N * 14,007 * 100) / PM \text{ (mg)}$$

Siendo,

B: volumen muerto del equipo utilizado.

N: normalidad del ácido clorhídrico utilizado en la valoración.

A partir del porcentaje de nitrógeno se puede calcular el porcentaje de proteínas de cada una de las muestras:

$$\%Proteínas = 6,38 * \%N \text{ (Merrill y Watt, 1973)}$$

3.6.5. Textura

La textura de las muestras obtenidas a partir de los cuatro quesos elaborados fue evaluada mediante un texturómetro TA.Txplus (Stable Micro Systems) (fig. 7) con una sonda esférica de 0,5 mm, analizándose la dureza y la adhesividad.

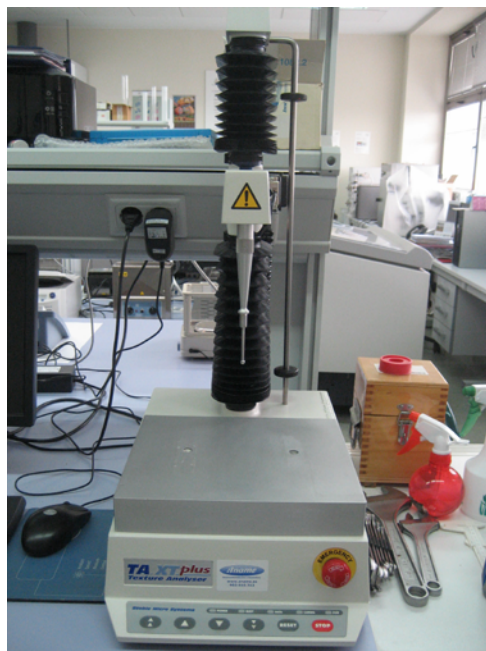


Figura 7. Texturómetro TA.Txplus (Stable Micro Systems) utilizado para analizar las muestras de queso.

3.6.6. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico permitió realizar un recuento del número de mesófilos totales, *Lactococcus*, *Lactobacillus* y mohos y levaduras, tanto en el interior de las diferentes muestras de queso como en sus cortezas, además de en una muestra del extracto de magaya para verificar la ausencia de microorganismos en el mismo.

Los medios utilizados en el análisis fueron PCA para mesófilos totales (Plate Acount Agar, Biokar Diagnostics, Allone), M17 para *Lactococcus* (broth Biokar), MRS para *Lactobacillus* (broth Biokar) y medio para mohos y levaduras.

Se sembraron 0,1 mL de las diluciones 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} de cada muestra en diferentes placas, a partir de una disolución de un gramo de muestra en nueve mL de agua destilada estéril.

Para el extracto de magaya, se procedió a la siembra de 0,1 mL del mismo extracto.

Posteriormente, las placas sembradas se incubaron a 30°C durante 48-72 horas para mesófilos totales, *Lactococcus* y *Lactobacillus*, y a 25°C durante 48-72 horas para mohos y levaduras.

3.7. Determinación de polifenoles

Para la determinación de la cantidad de polifenoles en el extracto de magaya se siguió el método de Gutiérrez Avella et al., 2008, modificado.

Para ello, se preparó una disolución patrón de ácido gálico 0,1 g/L, a partir de la cual se obtuvieron los diferentes patrones de concentraciones crecientes de ácido gálico.

Tanto a los patrones, como a las tres réplicas de la muestra del extracto de magaya, se les añadieron 1,5 mL de reactivo de Folin Ciocalteu 1N, y se dejaron cinco minutos a temperatura ambiente. Tras este tiempo, se añadieron 1,5 mL de carbonato cálcico al 20%, dejándose reposar los viales 90 minutos más a temperatura ambiente.

A continuación, se leyó la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro de ultravioleta-visible (Thermo Scientific Helios).

3.8. Identificación de Geotrichum candidum

Para la confirmar la presencia de *Geotrichum candidum* en las cortezas de los quesos elaborados, se cultivó el hongo en medio de agar patata dextrosa (PDA) durante cuatro días a 25°C. A continuación, se realizaron unas pruebas de identificación de género y especie del hongo cultivado, mediante las tiras API 20 C AUX, incubándose las mismas durante 48-72 horas a 29°C.

3.9. Evaluación organoléptica

Se realizó así mismo una evaluación organoléptica de los quesos, dividida

fundamentalmente en dos partes, con el objetivo de analizar las diferencias entre muestras en cuanto a sabor, olor, gusto y textura. Para ello, se llevó a cabo un panel de cata, compuesto por siete adultos, en la que se evaluaron caracteres sensoriales de los quesos, entre los que destacan el aspecto, el flavour y la textura.

El color correspondería al aspecto de las muestras, y la suma del olor y el sabor de las muestras de queso corresponden al flavour, que está influenciado por la percepción táctil del dolor, calor y frío, percibido a través del gusto, olfato y tacto (Carpenter et al., 2000).

Las características mecánicas primarias de la textura a evaluar fueron la dureza y la pegajosidad. La dureza se puede definir, desde el punto de vista organoléptico, como la fuerza precisa para comprimir una sustancia entre los molares o entre la lengua y el paladar, evaluando la máxima fuerza requerida para para deformar el producto. Por otra parte, la pegajosidad, también desde el punto de vista organoléptico, consiste en la fuerza precisa para remover el material que se adhiere en la boca, generalmente el paladar (Meullenet, 1998).

3.10. Análisis estadístico de los datos

El análisis estadístico de todos los datos obtenidos para cada variable se realizó mediante la aplicación estadística SPSS vs 12,0 (2003).

Las diferencias entre muestras fueron evaluadas mediante un análisis de la varianza de una vía (ANOVA). La comparación de medias se realizó utilizando el Test *a posteriori* de Scheffé ($P < 0,05$).

4. Resultados y discusión

Los resultados obtenidos mediante el análisis de las distintas variables de las pruebas preliminares, que incluyen las muestras tomadas a partir de los quesos L, N, P y NP, así como las muestras obtenidas a partir de los quesos M1, M2, B1 y B2, se encuentran detallados a continuación.

4.1. Pruebas preliminares: Quesos L y N

Los resultados de los primeros quesos elaborados, L y N, mostraron diferencias significativas para los valores de pH (tabla 2). Sin embargo, respecto al porcentaje de extracto seco (%ES) no se observaron diferencias significativas entre las muestras (tabla 2).

Tabla 2. Valores de pH y %ES de los quesos L y N. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.

Muestra	pH	%ES
L	5,61±0,010	62,03±1,226
N	5,75±0,036	60,59±1,472
F	42,000	1,698
p-valor	0,003	0,263

4.1.1. pH

En la figura 8 se observan los valores de pH obtenidos para los quesos L y N. El queso N mostró valores de pH significativamente más elevados (5,75) que el queso L (5,61), aunque estas diferencias podrían ser debidas al bajo número de muestras analizadas.

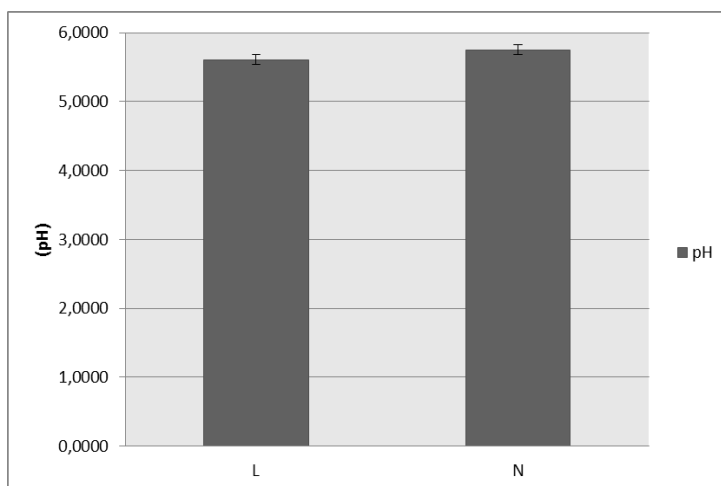


Figura 8. Valores de pH obtenidos para los quesos L y N.

Estos valores de pH son bastante habituales entre los quesos antes de su maduración, ya que se encuentran en torno a 5, debido a la pérdida de lactosa y a la aparición de ácido láctico (Pianta et al., 2004; Medina Fernández-Regatillo, 1987).

4.1.2. Extracto seco

El queso L muestra un porcentaje de extracto seco (%ES) (62,03%) algo superior que el queso N (60,59%) (fig. 9), aunque esta diferencia no es significativa (tabla 1).

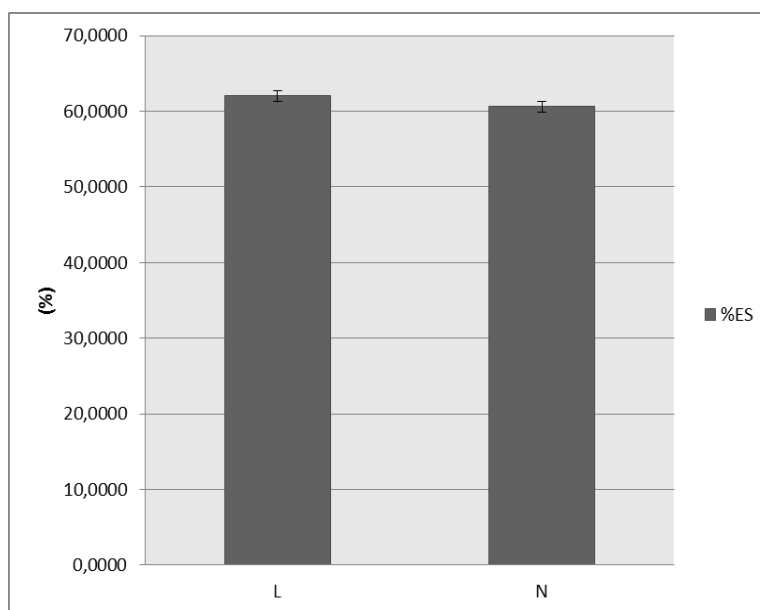


Figura 9. Porcentajes de extracto seco (%) obtenidos para los quesos L y N.

Una vez analizados los quesos L y N, se procedió a la variación del método de elaboración de los siguientes quesos, aplicando presión en uno de ellos durante el moldeado para comprobar su efecto en el %ES y en la humedad.

Además, se incorporó extracto de magaya a la leche utilizada en la elaboración de los quesos, para aumentar de esta manera el posible efecto ejercido por la magaya en las características fisicoquímicas de los quesos, y especialmente, conseguir un aroma y sabor más intensos en el producto final.

4.2. Pruebas preliminares: Quesos P y NP

El análisis de la varianza realizado para los quesos P y NP mostró diferencias significativas entre muestras para las variables de pH, %ES y para las medidas de la textura analizadas, tanto dureza como adhesividad (tabla 3).

Tabla 3. Valores de pH, %ES, dureza y adhesividad de los quesos P y NP. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.

Muestra	pH	%ES	Dureza (g)	Adhesividad (g)
P	5,60±0,025	59,65±1,599	647,70±33,144	-210,18±16,856
NP	5,43±0,056	75,71±1,393	2115,68±149,374	-493,15±49,629
F	16,509	171,292	642,507	204,114
p-valor	0,015	≤0,001	≤0,001	≤0,001

4.2.1. pH

El queso P presentó valores de pH significativamente más elevados (5,60) que el queso NP (5,43) (fig. 10). Nuevamente, estos valores de pH corresponden a lo esperado en quesos antes del periodo de maduración (Pianta et al., 2004; Medina Fernández-Regatillo, 1987).

Al estar prensado, el queso P desuera más fácilmente, por lo que habría menos sustrato fermentando y, por tanto, un pH menos ácido. Por el contrario, el queso NP, al no estar prensado, retiene una mayor cantidad de suero, por lo que hay mayor presencia de bacterias acidificantes y en consecuencia los niveles de pH son inferiores.

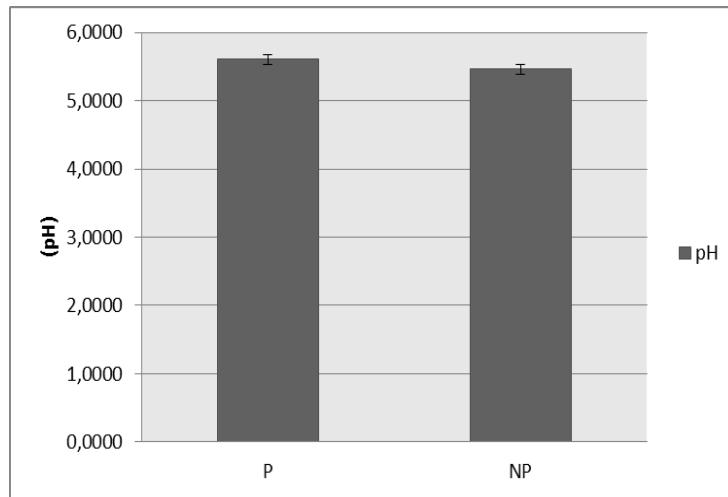


Figura 10. Valores de pH obtenidos para los quesos P y NP.

4.2.2. Extracto seco

El %ES del queso NP fue significativamente superior (75,71%) al queso P (59,65%) (fig. 11), por lo que el contenido en humedad del queso P es mayor que en el caso del queso NP, lo que permite deducir que, en este caso concreto, la presión aplicada al queso durante el moldeado contrarresta las pérdidas de humedad de los quesos, debido a que el prensado controla la humedad del producto final (UNAD, n.d.).

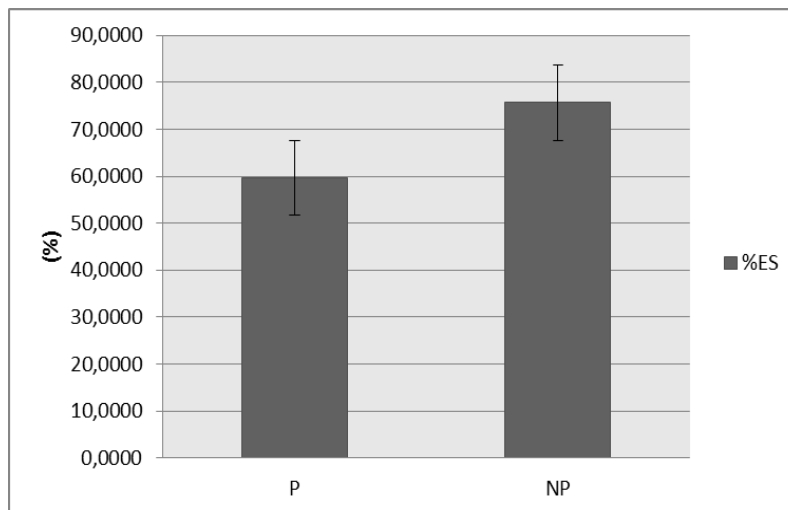


Figura 11. Porcentajes de extracto seco (%) obtenidos para los quesos P y NP.

De esta manera, el queso P presentó un porcentaje de humedad superior al queso NP y a los quesos L y N analizados anteriormente, consiguiéndose un queso con mayor humedad.

4.2.3. Textura

El queso NP muestra una dureza significativamente superior (2115,68 g) al queso P (647,70 g) (fig. 12), por lo que la presión aplicada al queso en este caso también influye en su textura, al igual que en el contenido en humedad. Aplicando presión al queso durante su moldeado se consiguen quesos con menor dureza y, por tanto, quesos de consistencia blanda, además de contribuir al desuerado de la cuajada, ayudar a la formación de la corteza y dar la forma al queso (Matallana Ventura, 1951). El queso NP acidifica más al no estar prensado, como se ha visto anteriormente, por lo que presenta una consistencia más dura.

Además, al presentar unos niveles de dureza superiores, el queso NP requiere una fuerza mayor en el proceso de masticado que el queso P (Osorio Tobón et al., 2004).

De igual manera, el queso NP muestra una adhesividad superior (-493,15 g) al queso P (-210,18 g) (fig. 12). Esto es habitual, ya que los quesos con mayor dureza también suelen presentar mayor adhesividad. El queso NP requiere además un mayor gasto energético al masticar durante su consumo (Osorio Tobón et al., 2004).

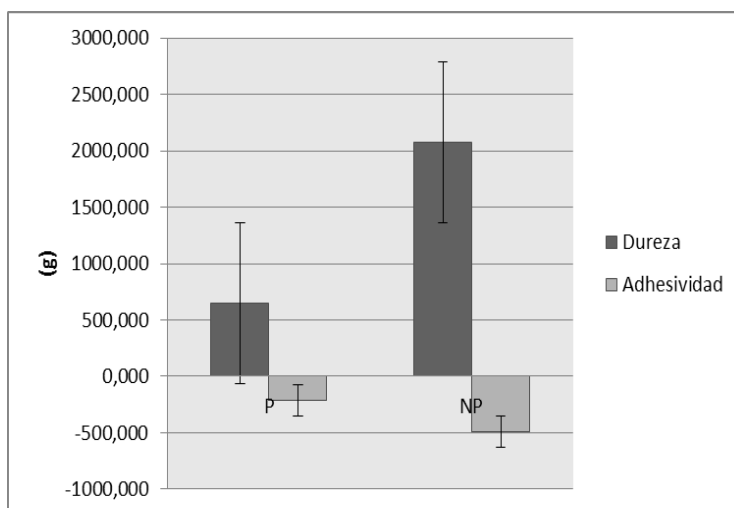


Figura 12. Valores de dureza y adhesividad (g) obtenidos para los quesos P y NP.

4.3. Quesos M1, M2, B1 y B2

Los quesos analizados en este caso, M1, M2, B1 y B2, mostraron diferencias significativas para las variables estudiadas, pH, %ES, %Grasas, %Proteínas, y para las medidas de textura

analizadas, dureza y adhesividad (tabla 4).

Tabla 4. Valores de pH, %ES, %Grasas, %Proteínas, dureza y adhesividad de los quesos M1, M2, B1 y B2. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.

Muestra	pH	%ES	% Grasas	% Proteínas	Dureza (g)	Adhesividad (g)
M1	7,02±0,090	66,05±2,348	51,31±0,587	43,94±1,939	351,60±173,118	-54,50±39,962
M2	6,56±0,062	68,45±0,820	49,62±0,641	43,98±0,401	728,00±84,726	-148,00±29,551
B1	7,34±0,075	68,77±1,359	52,70±1,833	42,59±0,763	197,20±35,646	-35,70±7,846
B2	6,83±0,055	64,60±0,745	52,52±1,121	46,13±0,852	140,50±33,066	-26,70±8,654
F	140,191	4,943	6,102	33,321	37,482	28,239
p-valor	≤0,001	0,018	0,009	≤0,001	≤0,001	≤0,001

4.3.1. pH

En la figura 13 se muestran los valores obtenidos para los quesos M1, M2, B1 y B2. El queso que significativamente presenta unos valores más elevados de pH es el queso B1 (7,34), mientras que el queso M2 presenta menores valores de pH (6,56).

De igual manera que en el caso de los quesos P y NP, el queso M2 presenta unos valores menores de pH debido a la falta de prensado, ya que se produce una mayor acumulación de lactosuero en el queso, lo que produce una bajada en el pH.

Además, también se observa que los quesos B1 y B2, que contienen *Brevibacterium linens*, presentan unos valores de pH más elevados que los quesos M1 y M2. Esto se debe al desarrollo de la bacteria en los quesos B1 y B2, ya que *B. linens* tiene unos niveles de pH de crecimiento óptimos en torno a 7.

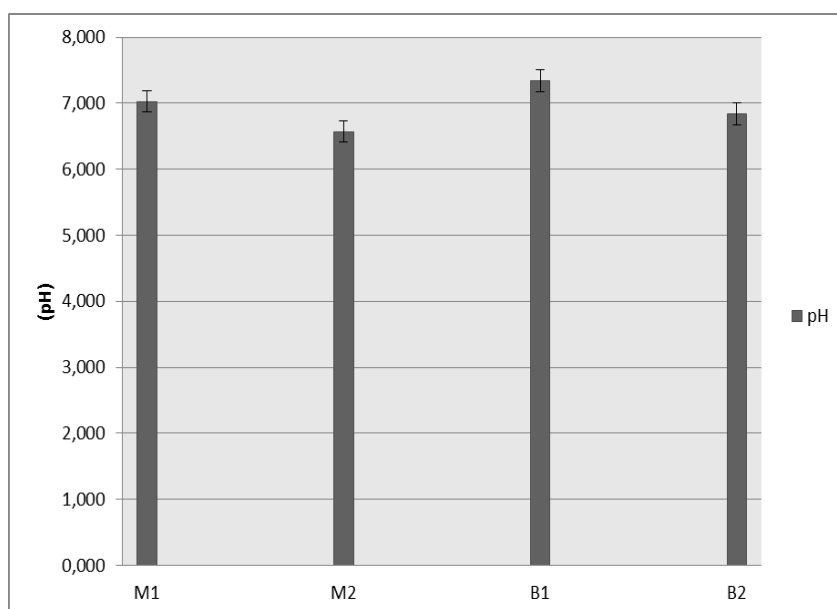


Figura 13. Valores de pH obtenidos para los quesos M1, M2, B1 y B2.

Estos valores coinciden con los valores reportados después de la maduración en quesos como el Camembert, cuyo pH se sitúa en torno a 7 en la corteza (Abraham et al., 2007). Este incremento en el pH al final de la maduración se debe al metabolismo del ácido láctico por acción de levaduras y mohos y la proteólisis, lo que lleva a la producción de NH_3 a partir de aminoácidos (Cantor et al., 2004; Zhang et al., 2013). Además, este pH en torno a 7, propicia el crecimiento y desarrollo de *Brevibacterium linens* en las muestras B1 y B2 (Rivas Ochea, 2002). Esto también es debido al uso del fermento CHN19, de bajo poder acidificante.

4.3.2. Extracto seco

Respecto al porcentaje de extracto seco, el queso que significativamente presenta un mayor contenido en el mismo, y por tanto, menor porcentaje de humedad, es B1, con un 68,77%. Por el contrario, el queso que presenta un contenido menor en %ES, y por tanto, mayor en humedad, es B2, con un 64,60%ES (fig. 14).

Como se puede observar, y es de esperar, los quesos con niveles de pH inferiores tienden a tener %ES superiores. El hecho de que el queso M2 presente un mayor porcentaje de extracto seco, y por tanto menor porcentaje de humedad que el queso M1, es debido a la falta de prensado durante la fase de moldeado, lo que aumenta su acidificación y grado de sinéresis, afectando también a la textura y a la microbiología.

Los quesos obtenidos en este trabajo, según el Ministerio de Agricultura, se clasificarían de acuerdo a su porcentaje de humedad inferior al 40% como quesos secos.

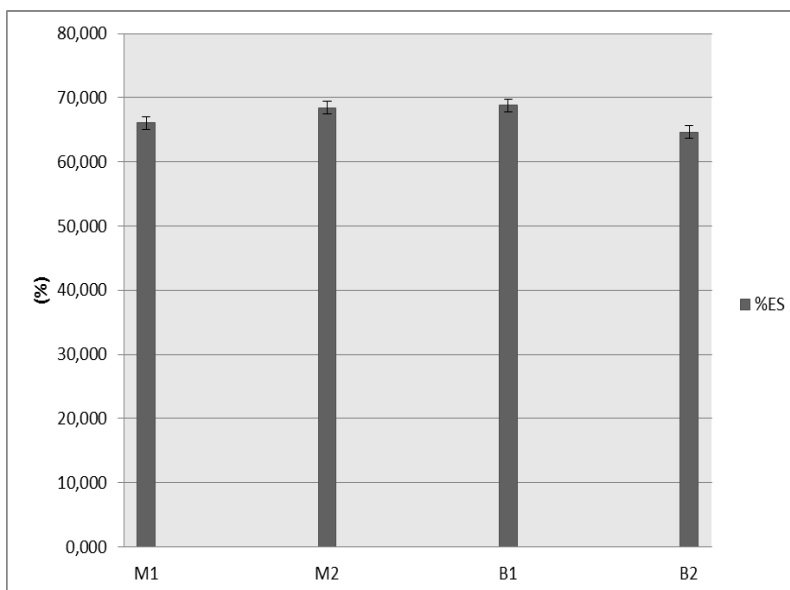


Figura 14. Valores de extracto seco (%ES) obtenidos para los quesos M1, M2, B1 y B2.

4.3.3. Grasas

El queso B1 presenta un contenido en grasa en base seca significativamente superior a los demás (52,70%), mientras que el queso con menor porcentaje de grasa es M2 (49,62%) (fig. 15). Estos datos son similares a los obtenidos por Vasek et al., 2013 en el queso Corrientes, con un 48,96-52,34% de grasas en base seca. De acuerdo con el Codex Alimentario, los quesos obtenidos en este trabajo serían considerados como quesos grasos, ya que presentan un porcentaje de grasa superior al 45% pero inferior al 60%.

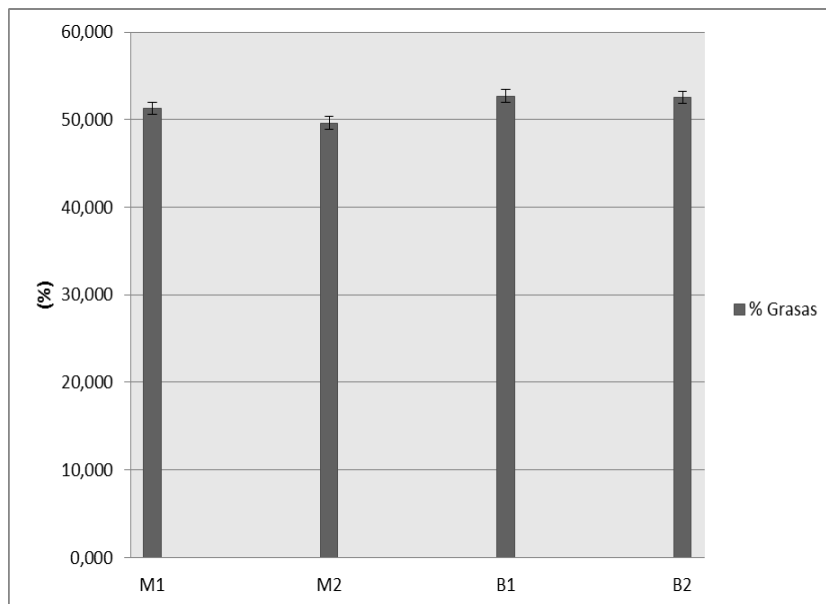


Figura 15. Contenido en grasa (%) en base seca obtenido para los quesos M1, M2, B1 y B2.

4.3.4. Proteínas

Con respecto al contenido en proteínas en base seca, el queso que presenta un mayor porcentaje en el mismo es el queso B2 (46,13%), y el queso B1 presenta el menor contenido en proteínas de todos (42,59%) (fig. 16). Estos datos son nuevamente similares a los obtenidos en el queso Corrientes (44,90 - 49,46%), por Vasek et al., 2013.

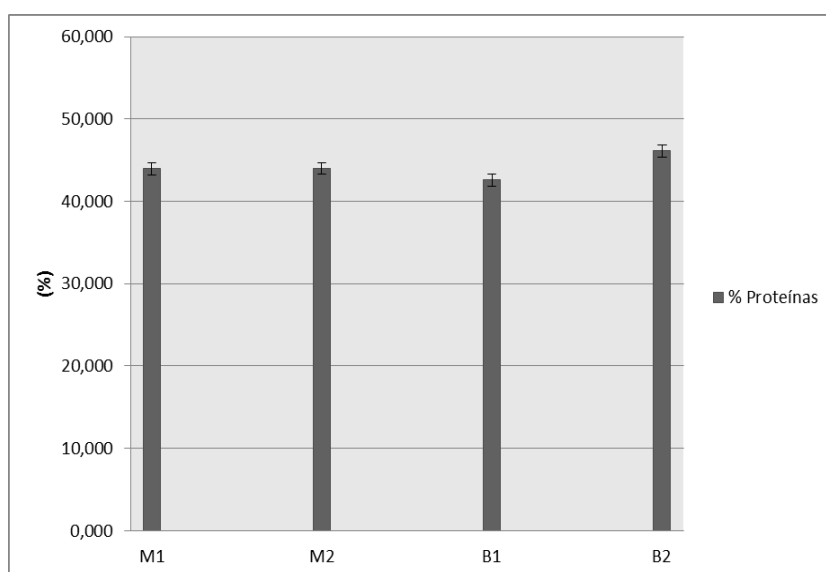


Figura 16. Contenido en proteína (%) en base seca obtenido para los quesos M1, M2, B1 y B2

4.3.5. Textura

En la figura 17 se representan los resultados obtenidos para los parámetros de textura analizados, dureza y adhesividad, la cual depende de las condiciones de maduración, el tiempo, temperatura y del porcentaje de humedad (Crosa et al., 2008).

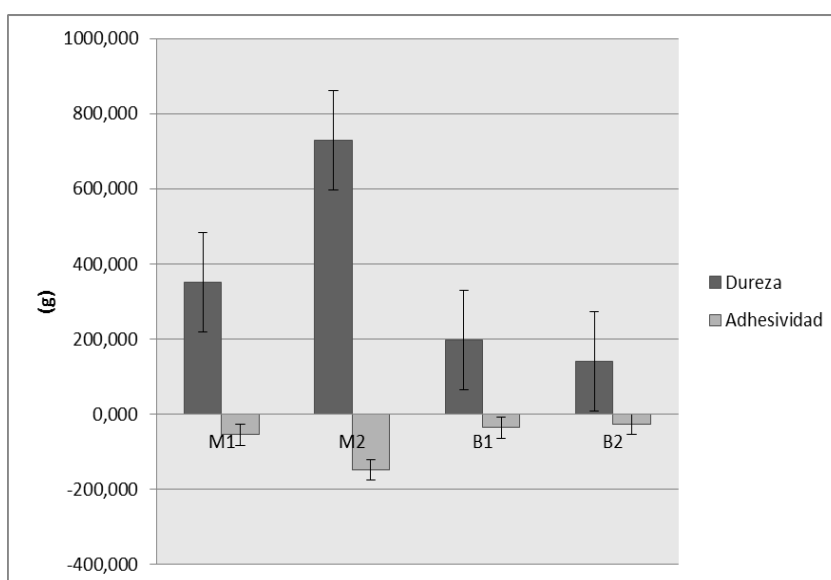


Figura 17. Valores obtenidos de dureza y adhesividad (g) para los quesos M1, M2, B1 y B2.

Como se puede observar, el queso que presenta significativamente mayor dureza y adhesividad de todos es M2 (728 y -148 g respectivamente), por lo que este queso requiere una fuerza mayor en el proceso de masticado y un mayor gasto energético durante el mismo (Osorio et al., 2004). Este hecho se debe nuevamente a la falta de prensa en este queso, lo que provocó un aumento en los parámetros, tanto en la dureza como en la adhesividad.

Por el contrario, el queso que presenta menor dureza y adhesividad es B2, con 140,50 y -26,70 g respectivamente. Éste es un resultado esperable, pues la presencia de *Brevibacterium linens* en los quesos tiene gran influencia en su textura final, presentando menor dureza, debido a la proteólisis que ocasiona. El que B1 y B2 presenten menores niveles de dureza y adhesividad que los demás quesos (fig. 17), viene también facilitado por los pequeños cambios introducidos en el proceso de elaboración de estos quesos, ya que en ellos los tiempos de espera entre cortado y removido fueron algo mayores a los de los quesos anteriores, ya que se incrementaron de cinco a diez minutos. Esto pudo haber provocado un desuerado más efectivo, y una mejor textura final

consecuencia.

4.3.6. Análisis microbiológico

Por otra parte, los resultados obtenidos en el análisis microbiológico, tanto del interior de los quesos como de la corteza, para los quesos M1, M2, B1 y B2, mostraron diferencias significativas para *Lactococcus*, *Lactobacillus*, mesófilos totales, mohos y levaduras y mohos y levaduras de la corteza (tabla 5) aunque éstas podrían ser debidas al bajo número de muestras analizadas, ya que los recuentos, tanto en el interior como en la corteza de los quesos, presentan valores muy próximos.

Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre muestras para mesófilos totales de la corteza (tabla 5).

En el extracto de magaya analizado no se observó la presencia de microorganismos, ni mesófilos totales, ni mohos ni levaduras, por lo que no se muestran los resultados obtenidos de este análisis.

Tabla 5. Valores de *Lactococcus*, *Lactobacillus* y mesófilos totales, mohos y levaduras, tanto del interior como de la corteza de los quesos M1, M2, B1 y B2, en UFC/g. Se representan las medias y desviaciones típicas de las distintas variables evaluadas, así como los estadísticos F y los p-valores.

Muestra	<i>Lactococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	Mesófilos totales	Mohos y levaduras	Mesófilos totales Corteza	Mohos Corteza
M1	4,40E+07	1,20E+08	1,60E+08	1,59E+08	2,00E+08	1,85E+08
M2	4,80E+07	4,95E+07	8,75E+07	1,26E+07	1,92E+08	3,25E+08
B1	1,92E+08	1,13E+08	1,89E+08	4,85E+06	1,99E+08	5,90E+08
B2	1,80E+08	1,76E+08	8,10E+07	4,35E+07	2,11E+08	3,05E+08
F	478,691	263,754	104,149	67,284	0,999	74,486
p-valor	≤0,001	≤0,001	≤0,001	≤0,001	0,486	≤0,001

Los datos obtenidos, correspondientes al análisis microbiológico del interior de los quesos M1, M2, B1 y B2, se muestran en la figura 18. El queso B1 presenta significativamente mayores cantidades de *Lactococcus* (1,92E+08 UFC/g) y mesófilos totales (1,89E+08 UFC/g). Sin embargo, el queso B2 muestra mayores cantidades de *Lactobacillus* (1,76E+08 UFC/g), así como mayor

presencia de mohos y levaduras ($4,35E+07$ UFC/g).

La diferencia respecto a la cantidad de *Lactobacillus* entre el queso M1 y el queso M2, $1,20E+08$ y $4,95E+07$ UFC/g respectivamente, pudo ser debida a la falta de prensado en el queso M2, lo que provocó unos menores niveles de humedad, y por tanto, un menor crecimiento de microorganismos, al contrario que en el queso M1.

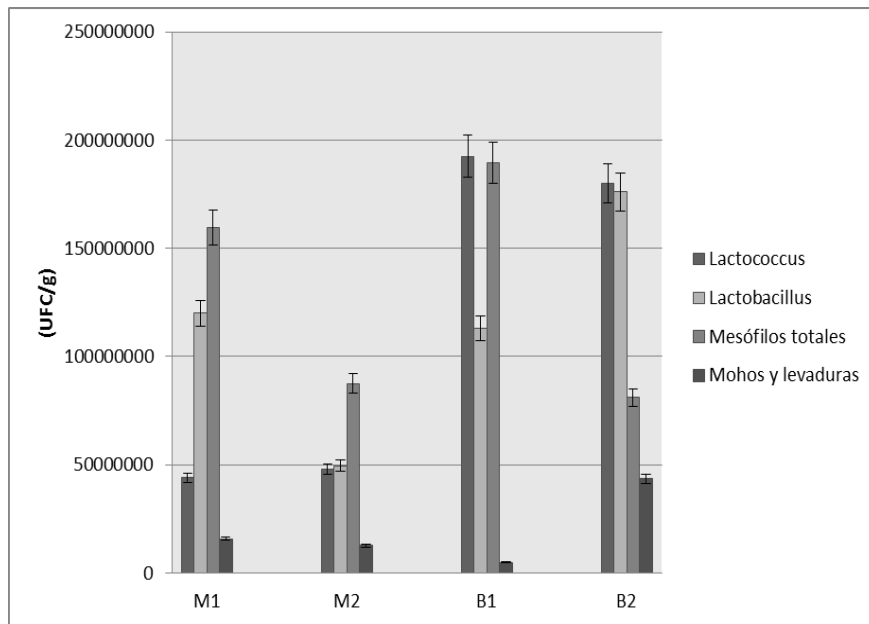


Figura 18. Valores obtenidos en el análisis microbiológico del interior de los quesos M1, M2, B1 y B2.

Respecto al análisis microbiológico de las cortezas de los quesos, el mayor contenido en mesófilos totales lo presenta el queso B2 ($2,11E+08$ UFC/g), mientras que en el queso B1 se observa una mayor cantidad de mohos y levaduras ($5,90E+08$ UFC/g) (fig. 19).

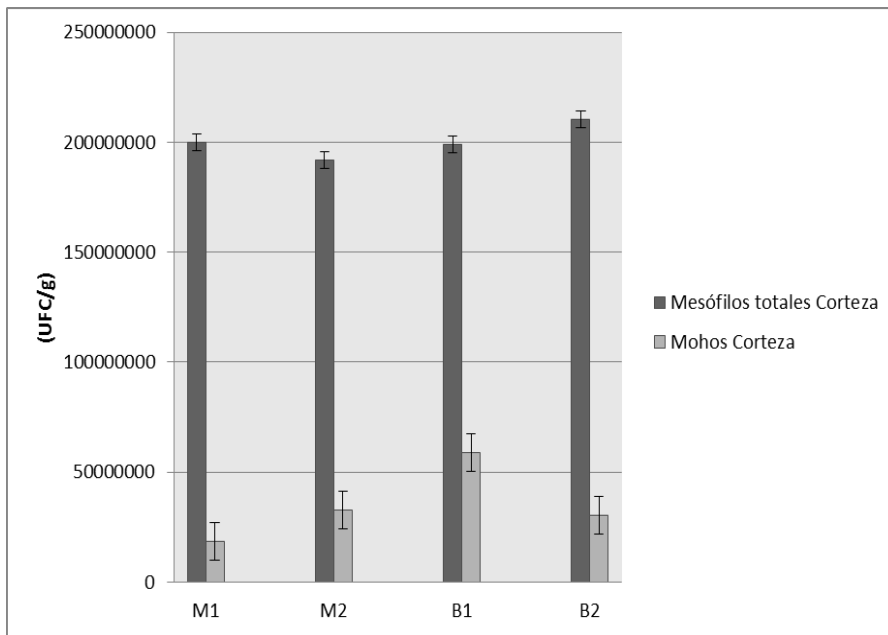


Figura 19. Valores obtenidos en el análisis microbiológico de las cortezas de los quesos M1, M2, B1 y B2.

4.4. Polifenoles

El contenido total de polifenoles para el extracto de magaya, obtenidos a partir de la curva de calibración (fig. 20), se detallan en la tabla 6.

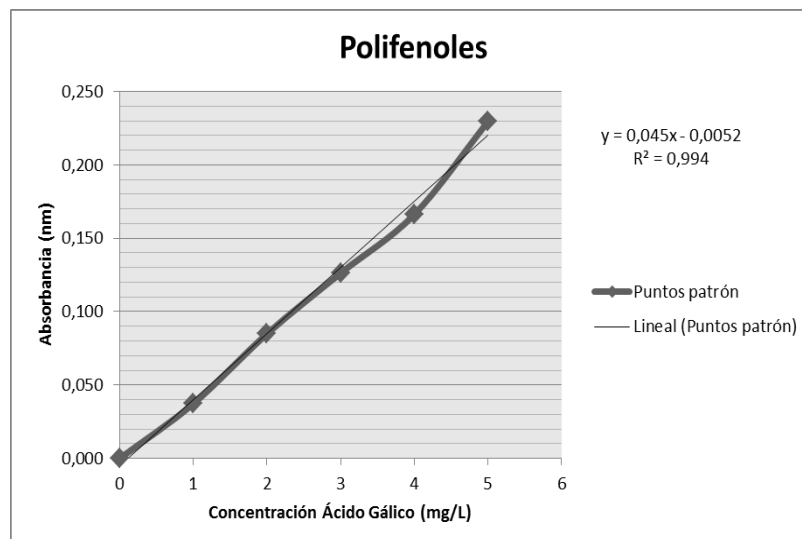


Figura 20. Curva de calibración de contenido de polifenoles.

Tabla 6. Valores de polifenoles obtenidos en el extracto de magaya de manzana. Se representa la media y desviación típica del contenido de polifenoles (mg/mg extraído).

Muestra	mg/mg extraído
Extracto magaya	0,659±0,045

El contenido de polifenoles totales obtenido a partir del extracto de magaya de manzana es muy superior al observado por Gramza-Michalowska y Czlapka-Matyasik, 2011, en extracto de manzana en etanol (0,002mg/mg).

4.5. Identificación de *Geotrichum candidum*

Durante el periodo de maduración de los quesos, apareció un hongo recubriendo casi en la totalidad de las cortezas de las muestras (fig. 21), probablemente debido a contaminación en la cámara de maduración de los quesos. Este hongo, dado su color blanquecino y su habitual colonización en diferentes variedades de quesos, se atribuyó a la especie *Geotrichum candidum*, por lo que se procedió a la verificación de su presencia en las cortezas de las muestras.



Figura 21. Queso M2 recubierto por el hongo *Geotrichum candidum*.

La morfología observada en las placas de cultivo en las que se aisló el hongo (fig. 22), de apariencia blanquecina, aterciopelada y radiada, confirmaba la teoría de que se trataba de

Geotrichum candidum, pero para verificarla, se procedió al cultivo del hongo en las tiras API C 20 AUX (fig. 23). Sin embargo, éstas no confirmaron su presencia, aunque se observó que el hongo en cuestión fermentaba D-Glucosa, glicerol, D-Galactosa, N-Acetil-Glucosamina, D-MeLeZitosa y L-ARAbinosa.

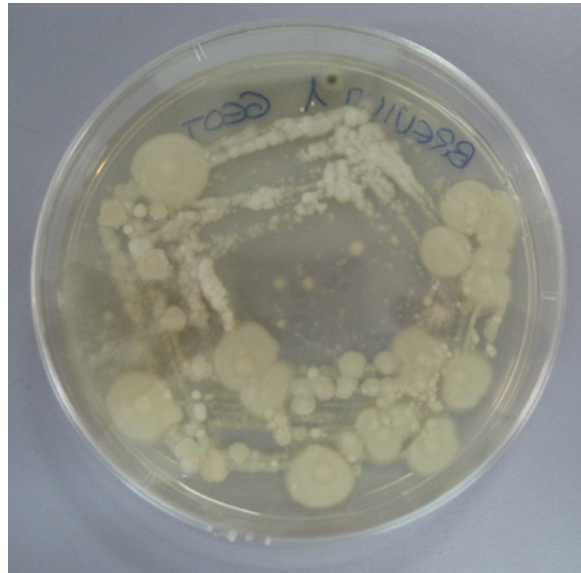


Figura 22. *Geotrichum candidum* aislado en medio Agar Dextrosa Patata a partir de la corteza del queso B1.

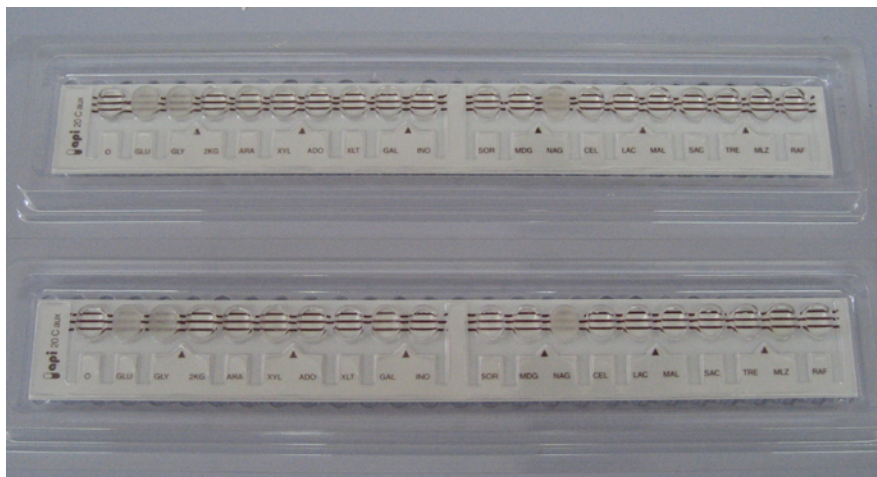


Figura 23. Tiras API C 20 AUX utilizadas para la identificación de *Geotrichum candidum*.

4.6. Evaluación organoléptica

4.6.1. Parte I

Para analizar las características organolépticas de los quesos elaborados, tanto color como aroma, además de las cualidades texturales de dureza y adhesividad, se agruparon los mismos en dos partidas: muestra 1 (obtenida a partir de los quesos M1 y M2) y muestra 2 (obtenida a partir de los quesos B1 y B2). Para ello, se valoraron numéricamente las características citadas anteriormente según su intensidad, de 1 a 5, siendo 1 el nivel menos intenso y el 5 el nivel más intenso. Los resultados del análisis organoléptico de éstas se muestran en la tabla 7 y se representan en las figuras 24 y 25.

De todos los parámetros analizados, solamente el color y la dureza presentan diferencias significativas entre las muestras (tabla 7).

Tabla 7. Valores de intensidad respecto al color, aroma, sabor, dureza y pegajosidad obtenidos en el análisis organoléptico de las muestras 1 y 2. Se representan las medias de los parámetros evaluados, así como los estadísticos F y los p-valores.

Muestra	Color	Aroma	Sabor	Dureza	Pegajosidad
1	1,86	3,14	3,71	1,86	2,14
2	3,86	3,42	4,14	2,86	2,71
F	57,333	0,296	0,509	3,9	1,75
p-valor	≤0,001	0,748	0,609	0,039	0,202

Como se puede apreciar en la figura 24, la muestra con una mayor intensidad de color es la muestra 2, mientras que la muestra 1 presenta una intensidad de color inferior. En cuanto al aroma, las dos muestras tienen intensidades similares, aunque la muestra 1 presenta un olor ligeramente superior. Por último, en cuanto al sabor, la muestra 2 presenta un sabor más intenso que la muestra 1.

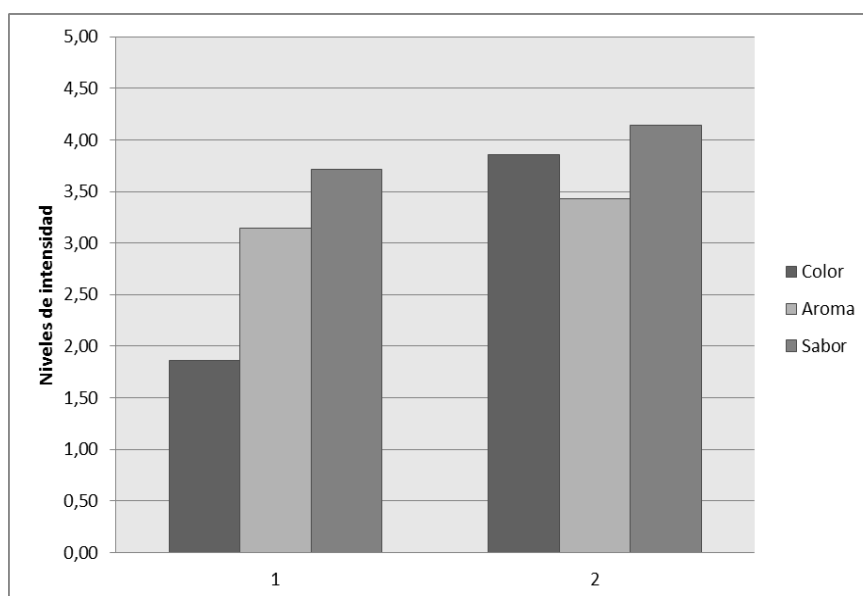


Figura 24. Intensidad de las características de las muestras 1 y 2 en cuanto a color, aroma y sabor.

De estos resultados se puede deducir que *Brevibacterium linens* intensifica el color en los quesos, así como su sabor y aroma.

En la figura 25 se observan las distintas intensidades para la dureza y pegajosidad de las muestras analizadas. La muestra 2 es la que perceptivamente tiene una mayor dureza, mientras que la muestra 1 es la que presenta menores niveles de la misma. Igualmente, la muestra 2 presenta una mayor pegajosidad, siendo la muestra 1 la menos pegajosa.

Los valores obtenidos a partir del panel de cata para el parámetro de dureza no coinciden con los datos obtenidos en el texturómetro ya que, de acuerdo con las personas integrantes de la cata, la muestra 2 sería la que presenta mayor dureza, y sin embargo los datos medidos con el texturómetro indican que los quesos B1 y B2 son los que presentan menor dureza y pegajosidad, por lo que debemos admitir que el panel de cata no ha sido fiable en el análisis de este parámetro.

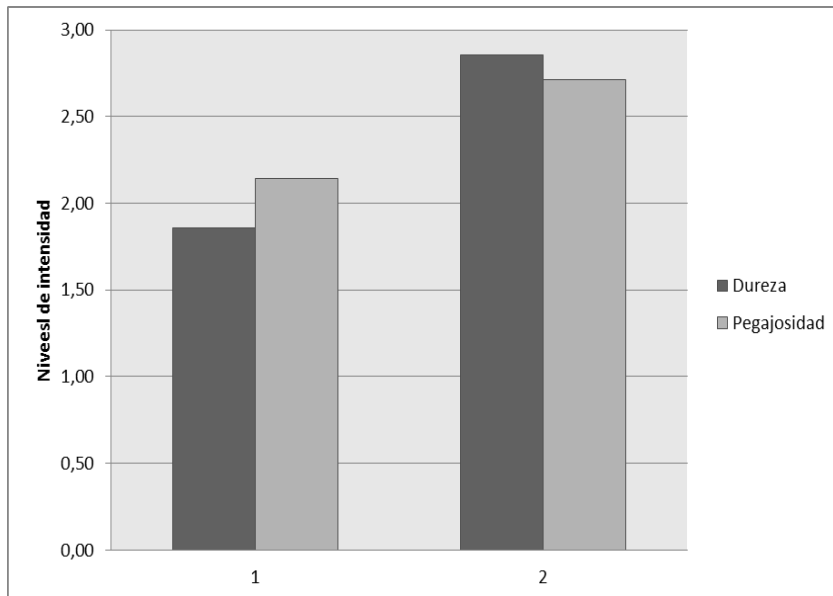


Figura 25. Intensidad de las características de las muestras 1 y 2 en cuanto a los parámetros de textura (dureza y pegajosidad).

4.6.2. Parte II

Además, se realizó un ensayo de preferencia entre las muestras 1 y 2 en relación a las características de aroma y sabor.

En cuanto al aroma, el 57% de las personas que participaron en la cata de queso prefirió la muestra 1 mientras que el 43% se decantó por la muestra 2 (fig. 26).

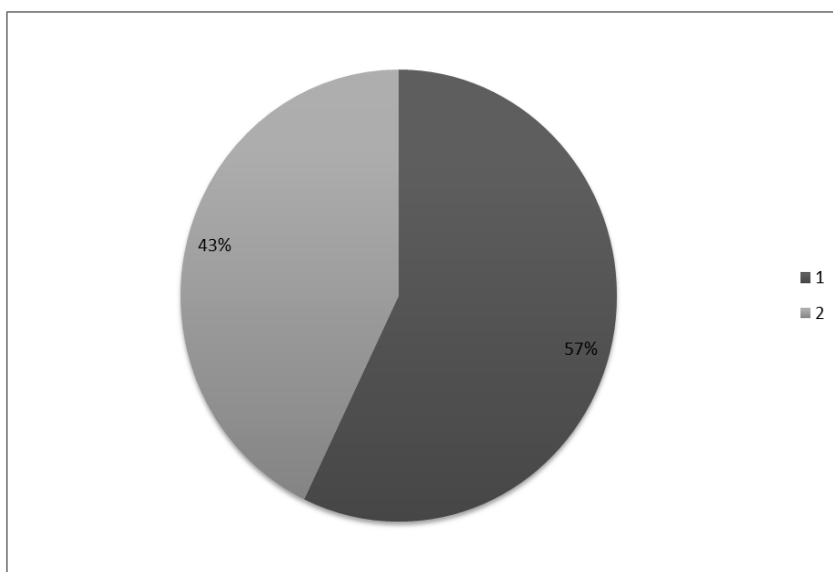


Figura 26. Porcentajes de preferencia en cuanto a aroma de las muestras 1 y 2.

De la misma manera, respecto al sabor, el 71% de los jueces prefirió la muestra 1 a la muestra 2 (29%) (fig. 27).

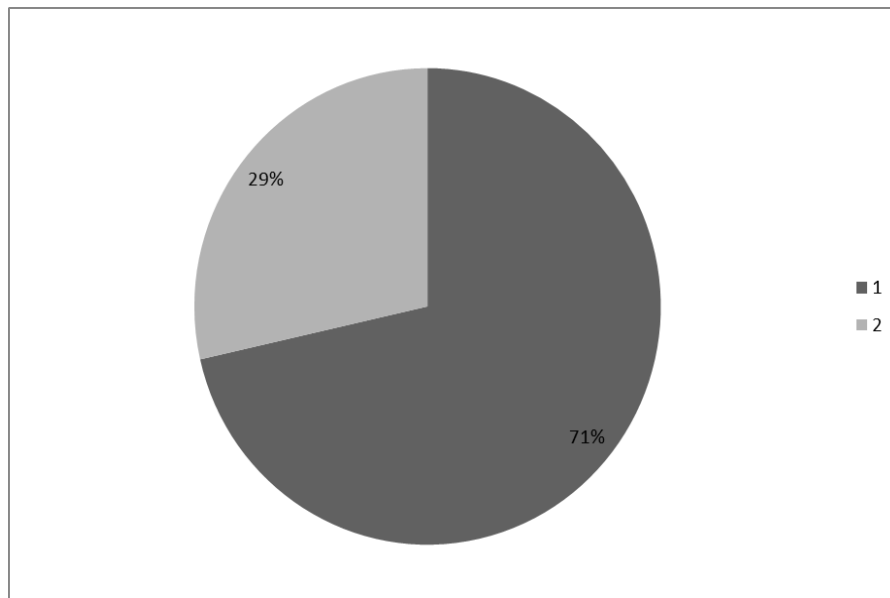


Figura 27. Porcentajes de preferencia en cuanto a sabor de las muestras 1 y 2.

Por último, se valoraron las diferencias encontradas entre las distintas muestras en cuanto a los parámetros organolépticos analizados. Según las valoraciones de los participantes de la cata, la muestra 1 tenía un sabor más equilibrado, menos amargo e intenso, así como un aroma más sutil. En cambio, la muestra 2 presentaba un aroma y sabor intensos, ligeramente amargo.

En ninguna de las dos muestras se apreció claramente el aroma ni el sabor a magaya de manzana, aunque a todas se les atribuyó un olor fuerte.

De estos datos se puede deducir que, si bien el extracto de magaya de manzana añadido a los quesos no se ve apreciado por el panel de cata en las concentraciones utilizadas, probablemente enmascarado por el olor más fuerte que presentan los quesos debido a la presencia de *Brevibacterium linens*, que aporta aromas característicos, el extracto añadido mejora el sabor de los quesos, disminuyendo el sabor amargo y consiguiendo un mejor aroma.

5. Conclusiones

1. En este trabajo se han conseguido elaborar quesos de buena calidad, de consistencia blanda, grasos y secos.
2. El pH de los quesos, al final de la maduración, se elevó hasta valores en torno a 7, consecuencia de la producción de amoníaco, permitiendo de esta manera el desarrollo de microorganismos como *Brevibacterium linens*.
3. La falta de prensado durante la fase de moldeado en los quesos elaborados en este trabajo resulta en un mayor porcentaje de extracto seco en los mismos, lo que aumenta su acidificación y grado de sinéresis, afectando también a la textura, aumentando su dureza y su adhesividad, y disminuyendo la presencia de ciertos microorganismos.
4. La presencia de *Brevibacterium linens* en los quesos tiene gran influencia en su textura final, consiguiéndose quesos con menor dureza y adhesividad, debido a la proteólisis que ocasiona. A esto además contribuye un aumento en el tiempo de espera entre el reposado y el removido en la etapa de elaboración de los quesos.
5. El uso del fermento láctico CHN19, de baja acidificación, favoreció el desarrollo de, entre otros, *Brevibacterium linens*, el cual da un perfil característico a los quesos, intensificando el color, aroma y sabor de los mismos.
6. No se han observado diferencias entre la aplicación de magaya de manzana liofilizada y magaya de manzana natural a los quesos en su parte externa.
7. El extracto de magaya de manzana aportó una cantidad elevada de polifenoles al producto final, además de mejorar el sabor de los quesos, disminuyendo el sabor amargo y consiguiendo un mejor aroma.
8. El aroma y sabor a magaya de manzana no se han percibido claramente por el panel de cata, probablemente enmascarados por el aroma producido por *Brevibacterium linens*.
9. Según la evaluación organoléptica de los quesos, los quesos M1 y M2 mostraron un mayor nivel de aceptación que los quesos B1 y B2, en cuanto a sabor y aroma.
10. Son necesarios estudios más detallados para comprobar el efecto antioxidante de los polifenoles hallados en el extracto de magaya de manzana en los quesos, así como las dosis óptimas de fermentos y *Brevibacterium linens* a utilizar, que permitan evitar el

enmascaramiento de los aromas de manzana en el producto final.

11. Una posibilidad también a estudiar, muy interesante de cara a la aceptación comercial de este producto, tanto en aspecto como en aroma y sabor, puede ser la presentación final de las piezas con una cubierta exterior adherida de magaya, aplicada durante el afinado, comprobando sus efectos a lo largo de esta etapa en función de la temperatura y humedad.

6. Bibliografía

- Abraham, S., Chacon, R., Colas, B., Feron, G. y De Connic, J. (2007). *Eh and pH gradients in Camembert cheese during ripening: Measurements using microelectrodes and correlations with texture*. International Dairy Journal (17): 954-960.
- Anónimo. (2000). *Elaboración de quesos de pasta blanda*. Los quesos. 98-101. Buenos Aires, Argentina.
- Bevilacqua, A. E. (1992). *Changes in organic acids during ripening of Port Salut Argentino cheese*. Food Chemistry (43): 345-349.
- Cantor, M.D., Van den Tempel, T., Hansen, T.K. y Ardo, Y. (2004). *Blue Cheese. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Tercera Edición, Volumen 2. Major Cheese Groups.
- Carpenter, R.P., Lyon, D.H. y Hasdell, T.A. (2000). *Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de los alimentos*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. Ed. Acribia. España.
- Ceymann, M., Arrigoni, E., Scharer, H., Nising, A.B. y Hurrell, R.F. (2012). *Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile*. Journal of Food Composition and Analysis (26): 128-135.
- Codex Standard 283-1978 *Norma General del Codex para el queso*.
- Crosa, M. J., Harispe, R., Márquez, R., Pelaggio, R., Repiso, L., Silvera, C. (2008). *Cambios reológicos del queso Colonia durante el proceso de maduración*. Publicación anual del laboratorio tecnológico del Uruguay. 54. INN TEC. Número 3.
- Delgado, F.J., Rodríguez Pinilla, J., Márquez, G., Roa, I. Y Ramírez, R. (2015). *Physicochemical, proteolysis and texture changes during the storage of a mature soft cheese treated by high pressure*. Eur Food Res Technol (240): 1167-1176.
- Durán Agüero, S., Torres García, J., y Sanhueza Catalán, J. (2015). *Consumo de queso y lácteos y enfermedades crónicas asociadas a obesidad, ¿amigo o enemigo?* Nutricion Hospitalaria. 32(1): 61-68.

- Espejo Marín, C. (2001). *Modernidad y tradición en la fabricación de queso en España*. Departamento de Geografía Física, Humana y Análisis Regional. Facultad de Letras. Universidad de Murcia. BIBLID (33): 81-109.
- Fox, P.F., Mcsweeney, P.L.H., Mcogan, T. y Guinee, T.P. (2004). *Cheese chemistry, physics and microbiology*. Third edition. Volume 2. Major cheese groups. (2): 1-434.
- Garbowska, M., Pluta A. y Berthold-Pluta, A. (2016). *Changes during ripening of reduced-fat Dutch-type cheeses produced with low temperature and long time (LTLT) heat-treated adjunct starter culture*. Food Science and Technology (69): 287-294.
- Ghada, Z. A. A., Alia, M. H., Soha, A.S., Magdy, N. A., y Mohammed, F. S. (2002). *Chemical, Nutritional and Microbiological Evaluation of Some Egyptian Soft Cheeses*. The Egyptian Journal of Hospital Medicine (17) : 44 – 57.
- González Villarreal, M. (2002). *Tecnología para la Elaboración de Queso Blanco, Amarillo y Yogurt*. Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (República de Panamá).
- Gramza-Michalowska, A. y Czapka-Matyasik, M. (2011). *Evaluation of the antiradical potential of fruit and vegetable snacks*. Technology Alimentary. 10(1): 61-72.
- Gullón, B., Falqué, E., Alonso, J.L. y Parajó, J.C. (2007). *Evaluation of Apple Pomace as a Raw Material for Alternative Applications in Food Industries*. Food Technol. Biotechnol. 45 (4) 426–433.
- Gutiérrez Avella, D.M., Ortiz García, C.A. y Mendoza Cisnero, A. (2008). *Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal*. Simposio de Metrología. Santiago de Querétaro, México, 22 al 24 de Octubre.
- Kahle, K., Kempf, M., Schreier, P., Scheppach, W., Schrenk, D., Kautenburger, T., Hecker, D., Huemmer, W., Ackermann, M. y Richling, E. (2011). *Intestinal transit and systemic metabolism of apple polyphenols*. Eur J Nutr (50): 507-522.

- Khanizadeh, S., Rong Tsao, A., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T. y Rupasinghe, V. (2008). *Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing*. Journal of Food Composition and Analysis (21): 396-401.
- Lotito, S.B. y Frei, B. (2004). *Relevance of Apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects*. Free Radical Biology and Medicine, 36 (2): 201-211.
- Marqués de Ávila, A. (2014). *Quesos de España: Tradición, innovación y calidad diferenciada*. Distribución y Consumo 30 (5).
- Matallana Ventura, S. (1951). *Prensado de quesos*. Ministerio de Agricultura. Hojas divulgadoras. 21-51.
- Medina Fernández-Regatillo, M. (1987). *Principios básicos para la fabricación de quesos*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de Investigación y Capacitación Agrarias.
- Merrill y Watt (1973). *Specific factors for the conversion of nitrogen content to protein content (selected foods)*.
- Meullenet, J.F. (1998). *Evaluación comparada organoléptica e instrumental -TPA- de la textura de 21 muestras de alimentos distintos*. Journal of Sensory Studies.
- Minetti, M. L.; Zannier, M. S.; Sbodio, O. A. y Tercero, E. J. (2002). *Determinación de cloruro de sodio en quesos argentinos*. Revista FAVE, Ciencias Veterinarias 1 (1).
- Mulas, G., Anedda, R., Longo, D.L., Roggio, T. S., y Uzzau. (2016). *An MRI method for monitoring the ripening of Grana Padano cheese*. International Dairy Journal (52): 19-25.
- Osorio Tobón, J.F., Ciro Velásquez, H.J, y Mejía Restrepo, L.G. (2004). *Caracterización textural y fisicoquímica del queso Edam*. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín. 57 (1).

- Pachlová, V., Buňka, F., y Buňková, L. (2015). *Proteolysis during manufacture and ripening/storing of “Olomoucké Tvaruzky” cheese*. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science. 130-134.
- Pianta, C., López Díaz, T.M., y García Fernández, M.C. (2004). *Physical and chemical composition of colonial cheese (Brasil)*. AN. VET, Murcia, (20): 113-122.
- Periago Cerdanyola del Vallès, J. S. (2002). *Cambios en las características de un queso de leche de cabra sometido a alta presión hidrostática. Aceleración de la maduración*. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Ramírez Nolla, S. y Vélez Ruiz, J.F. (2012). *Queso Oaxaca: panorama del proceso de elaboración, características fisicoquímicas y estudios recientes de un queso típico mexicano*. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 1-12.
- Rivas Ochea, G. (2000). *Actividad Antibacterial de Brevibacterium linens Ap.* Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias. Departamento de Biología.
- Rodríguez Madrera, R. (2012). *Recomendaciones para la elaboración de aguardiente de magaya*. Tecnología Agroalimentaria, número 11. 53-56.
- Sánchez Ponte, M.D. R. (2003). *Maduración acelerada de queso con bacterias lácticas atenuadas térmicamente*. Revista científica, FCV-LUZ, 12 (4): 299-306.
- Shabbiri, K., Adnan, A., Jamil, S., Ahmad, W., Noor, B. y Rafique, H.M. (2012). *Medium optimization of protease production by brevibacterium linens DSM 20158, using statistical approach*. Brazilian Journal of Microbiology 1051-1061.
- Shakee, L., Rehman, U.R., Fox, P.R., McSweeney, P.L.H., Madkor, S.A., y Farkye, N.Y. (2001). *Alternatives to pilot plant experiments in cheese-ripening studies*. International Journal of Dairy Technology. Volumen 54 (4): 121.126.
- Shoji, T., Akazome, Y., Kanda, T. e Ikeda, M. (2004). *The toxicology and safety of apple polyphenol extract*. Food and Chemical Toxicology (42): 959-967.

- Sladana, M., Savatović, S. M., Dilas, V., Tumbas, T. y Jasna, M. (2005). *Antioxidant activity of induna apple pomace extract*. APTEFF (36): 1-266.
- Vasek, O.M., Mazza, S.M., y De Giori, G.S. (2013). *Physicochemical and microbiological evaluation of Corrientes artisanal cheese during ripening*. Food Sci. Technol, Campinas, 33(1): 151-160.
- Wang, J., Zheng, Z., Zhao1, X., Yang, Y., y Yang, Z. (2015). *Effect of Starter Cultures on the Ripening Properties of Yak Milk Cheese*. Food Science and Technology Research 21 (3): 419-430.
- Zhang, T., Liu, H.P., y Cao, C.L. (2013). *Comparison of the flavor of different cheese flavouring agents produced by using surface ripening bacterium and/or enzymes*. Advance Journal of Food Science and Technology 5(10): 1380-1389.

Páginas web consultadas

1. UNAD. Universidad Nacional Abierta y A Distancia (n.d.). Tecnología de la elaboración de queso. datateca.unad.edu.co/contenidos/211613/Modulo_zip/leccin__32__tecnologia_de__la_elaboracin_del_queso.html. Consultado en Junio, 2016.
2. Inlac, Organización profesional Láctea, (n.d.). www.inlac.es/sector_consumo.php. Consultado en Junio, 2016.
3. OECD/FAO (2015), OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2015, OECD Consultado en Junio, 2016., París. DOI: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-es.
4. Turismo Asturias, Paraíso Natural. 2014. Sociedad Pública de Gestión y Promoción Turística y Cultural del Principado de Asturias. (n.d.). www.turismoasturias.es/descubre/gastronomia/productos/quesos. Consultado en Junio, 2016.
5. MAGRAMA. Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente, (n.d.).

www.alimentacion.es/es/conoce_lo_que_comes/bloc/queso/default/principal/.

Consultado en Junio, 2016.

6. Food Science. University of Guelph (n.d.). www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/enzymic-coagulation-milk. Consultado en Junio, 2016.
7. Industria Alimenticia (2012). www.industriaalimenticia.com/articles/86046-productos-sin-lactosa-se-dirigen-hacia-una-preferencia-incondicional. Consultado en Julio, 2016.
8. Silva Rubio, L.A., Bermúdez Huertas, A. y Betancourt Ortiz, R. (2013). Nuevas tecnologías en derivados lácteos. Superintendencia de Industria y Comercio. Banco de patentes. www.ibepi.org/wpcontent/uploads/2014/12/1.1Boletin_derivados_lacteos_31dic.pdf. Consultado en Julio, 2016.

Anexo

Cata de Queso (25/5/2016)

Se trata de evaluar organolépticamente, en modo comparativo, dos muestras de queso.

Parte I.

Se valorará numéricamente en las muestras su color, olor y sabor y dos cualidades de textura (dureza y pegajosidad)

a) Color.

- En una escala de graduación propia de 1 a 5 puntúa la claridad del color de las muestras (1 muy claro 5, muy oscuro)

Muestra 1: _____ Muestra 2: _____

b) Olor:

- En una escala de graduación propia de 1 a 5 puntúa la intensidad del olor de las muestras (1 muy poco intensa, 5, muy intensa)

Muestra 1: _____ Muestra 2: _____

c) Sabor

- En una escala de graduación propia de 1 a 5 puntúa la intensidad del sabor de las muestras (1 muy poco fuerte 5, muy fuerte)

Muestra 1: _____ Muestra 2: _____

d) Dureza

- En una escala de graduación propia de 1 a 5 puntúa la dureza de las muestras (1 muy poco dura, 5, muy dura)

Muestra 1: _____ Muestra 2: _____

e) Pegajosidad

- En una escala de graduación propia de 1 a 5 puntúa la pegajosidad de las muestras (1 muy poco pegajosa, 5, muy pegajosa)

Muestra 1: _____ Muestra 2: _____

Parte II.

1) En una cata de preferencia se trata de elegir la preferida en cuanto a olor y sabor.

A) Encierra con un círculo la muestra preferida:

OLOR.....	1	2
SABOR.....	1	2

2) Pruebe ahora las muestras 1 y 2 y conteste a las siguientes preguntas:

a) Qué diferencias de olor, sabor y textura encuentra entre la muestra 1 y la 2?

OLOR:

SABOR:

DUREZA: _____

PEGAJOSIDAD: _____

B.- Intente identificar la causa de las diferencias encontradas en cuanto a olor y sabor. Por ejemplo, en cuanto a olor ver si se identifican en las muestras 1 y 2 aromas peculiares: ¿Afrutados? ¿A pies? ¿Mezcla de ambos? ¿Otros? Y en cuanto a sabor indicar si se identifican sabores más o menos amargos, ácidos, salados o dulces, en las respectivas muestras.

Muestra 1:

Muestra 2:

(Puede contestar con más amplitud a este apartado B por detrás de esta hoja, así como hacer todos los comentarios que estime oportunos)