



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Ciència Animal i dels Aliments
Facultat de Veterinària
Universitat Autònoma de Barcelona

**USO DE LA HOMOGENEIZACIÓN POR ULTRA ALTA PRESIÓN (UHPH)
PARA LA MEJORA DE QUESOS CON CONTENIDO REDUCIDO EN GRASA**

Memoria presentada para optar al Grado de
Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

JHONY MAYTA HANCCO

Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), 2018



Los Drs. ANTONIO JOSÉ TRUJILLO MESA y BIBIANA JUAN GODOY, Profesores Asociados del Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB),

HACEN CONSTAR: que **JHONY MAYTA HANCCO** ha realizado, bajo su dirección, en el área de Ciencia de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Barcelona, el trabajo titulado “**Uso de la homogeneización por ultra alta presión (UHPH) para la mejora de quesos con contenido reducido en grasa**” que presenta para optar el grado de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Y para que así conste firmamos el presente documento en:

Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), el 5 de septiembre del 2018

Dr. Antonio José Trujillo Mesa

Dra. Bibiana Juan Godoy

Esta tesis doctoral fue financiada por el Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo (PRONABEC, Perú) y por el proyecto “Aplicación de la ultra alta presión por homogenización en la obtención de emulsiones submicrónicas con componentes bioactivos y su incorporación en productos lácteos” (AGL2011-26766).

A Dios y a mi familia

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a la Dra. Bibiana Juan Godoy, directora/tutora de la presente Tesis, por el apoyo, motivación, tiempo dedicado, paciencia y libertad que me ha otorgado para realizar este trabajo.

Al Dr. Antonio José Trujillo Mesa, por acogerme como su doctorando. Por su valiosa dirección, ideas, enseñanzas y visión práctica del mundo científico.

A Joan Miquel, por su generosidad, tertulias y colaboración en todo momento en el “Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA)”. A Ramón, por su generosidad y disponibilidad permanente.

Del mismo modo quiero expresar mi agradecimiento a todos los compañeros y amigos de la UAB: Abel, Idoia, Sonia, Sasha, Cristina, Fabio, Oscar, Carlos, Alvar, Advellí, Ulises, Nohemí y Daniel con quienes compartimos momentos gratos dentro y fuera de la Universidad.

A mi familia en Perú, por su constante apoyo, comprensión y motivación. Gracias por su amor incondicional.

A todas las personas que de alguna forma u otra intervinieron en este trabajo y escapan de mi memoria en este momento.

¡A todos mi más profundo agradecimiento!

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS

Publicación (*artículo enviado*)

Título: Effect of Ultra-High Pressure Homogenisation of Cream on the Physicochemical and Sensorial Characteristics of Fat-Reduced Starter-Free Fresh Cheeses.

Autores: Jhony Mayta-Hancco, Antonio-José Trujillo, Anna Zamora and Bibiana Juan.

Referencia: LWT-Food Science and Technology.

Poster.

Título: Aplicación de la ultra-alta presión de homogenización a la nata para su aplicación en la fabricación de quesos bajos en grasa.

Autores: Mayta J.; Arango, O.; Trujillo, A.J. y Juan B.

Acto: VIII CYTA/CESIA. Congreso de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTA) y Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA).

Lugar y fecha: Badajoz (España), 7-10 de abril del 2015.

Poster.

Título: Elaboración de quesos frescos reducidos en grasa sensorialmente mejorados mediante el uso de la ultra-alta presión de homogenización.

Autores: Mayta J.; Arango, O.; Trujillo, A.J. y Juan B.

Acto: XI International Conference on the Mediterranean Diet.

Lugar y fecha: Barcelona (España), 27-28 de abril del 2016.

Poster.

Título: Aplicación de la ultra-alta presión de homogenización a la nata para su aplicación en la fabricación de quesos reducidos en grasa.

Autores: Mayta J.; Arango, O.; Trujillo, A.J. y Juan B.

Acto: IV CIIA 2017. Congreso Internacional de Ingeniería Agroindustrial.

Lugar y fecha: Puno (Perú), 6-9 de noviembre del 2017.

RESUMEN

La homogeneización convencional se ha utilizado ampliamente en la industria alimentaria y en especial en la láctea para reducir el tamaño del glóbulo graso y evitar el desnatado espontáneo de los productos, estabilizar emulsiones y obtener productos con nuevas propiedades reológicas. La homogeneización a ultra-alta presión (UHPH) es una tecnología no térmica basada en los mismos principios que la homogeneización convencional que utiliza presiones de 10 a 20 veces superior a los homogeneizadores clásicos y que es capaz de inactivar microorganismos y enzimas, reducir el tamaño de partícula a nivel submicrón y estabilizar las emulsiones a nivel físico y oxidativo.

El objetivo principal de esta tesis fue estudiar los efectos de la tecnología de UHPH sobre la fase grasa de la leche (nata) y la incorporación de ésta en la leche de quesería para la elaboración de quesos reducidos en grasa. Para este propósito, se realizó un estudio preliminar del efecto de la incorporación de natas tratadas por UHPH en la leche desnatada de quesería con el fin de determinar las propiedades de coagulación enzimática, rendimiento potencial quesero y microestructura de los geles. Se elaboraron 4 tipos de leches a partir de leche desnatada pasteurizada y nata pasteurizada a 65 °C por 30 min (LP), nata homogeneizada-pasteurizada a 15 MPa, 65 °C por 30 min (LPH), nata tratada por UHPH a 300 MPa con temperatura de entrada (T_i) = 40 °C (LUH) y nata adicionada de 1,5% de caseinato de sodio y tratada por UHPH a 300 MPa y T_i = 40 °C (LUHC). Los tratamientos de homogeneización modificaron las propiedades de coagulación enzimática de la leche, disminuyendo la velocidad de agregación micelar y la firmeza del gel, en comparación a la leche añadida de nata pasteurizada. El tratamiento de UHPH de las natas mejoró el rendimiento quesero potencial de las leches en comparación al tratamiento de homogeneización convencional. Este rendimiento fue mayor con la nata tratada por UHPH adicionada de caseinato de sodio, alcanzando rendimientos similares a los obtenidos con la leche entera.

La siguiente fase fue evaluar el efecto de la incorporación de natas tratadas mediante UHPH en la leche de quesería sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales, de color y textura de quesos frescos reducidos en grasa, en comparación con quesos elaborados a partir de natas tratadas por métodos convencionales (homogeneización convencional y/o pasteurización) durante 7 días de almacenamiento a 4 °C. Se fabricaron 5 tipos diferentes de quesos frescos a partir de las leches con 1,5% de grasa LP, LPH, LUH y LUHC para obtener los quesos reducidos en grasa QPf, QPHf,

QUHf y QUHCf, respectivamente. También se elaboró un queso a partir de leche al 3,2% de grasa por adición de nata pasteurizada (QEf). Los tratamientos de homogeneización (convencional y UHPH) de la nata produjeron quesos con una matriz proteica más compacta. Sin embargo, la adición de caseinato a la nata antes del tratamiento UHPH produjo quesos reducidos en grasa (QUHCf) con propiedades texturales y sensoriales similares a los elaborados con leche entera, en comparación al queso elaborado a partir de nata tratada por homogeneización convencional que fue descrito por los panelistas como quesos más duros y de textura granulosa. Asimismo, la lipólisis y oxidación lipídica fue menor en el QUHCf en comparación al QPHf.

Del estudio anterior se seleccionaron los mejores tratamientos aplicados en la elaboración de quesos frescos, y se realizó un ensayo de incorporación de nata tratada por UHPH en la leche de quesería estudiando las características fisicoquímicas, bioquímicas, sensoriales, de color y textura de quesos madurados y reducidos en grasa, en comparación con quesos elaborados a partir de nata pasteurizada durante 60 días de maduración. Se fabricaron 3 tipos diferentes de quesos madurados: un queso a partir de leche al 3,2% de grasa por adición de nata pasteurizada (QEm), y 2 quesos reducidos en grasa elaborado con LP (QPm) y LUHC (QUHCm), respectivamente. La reducción de grasa de la leche de quesería produjo disminuciones del rendimiento quesero, incrementando el pH y humedad de los quesos en comparación a los elaborados con leche entera. Todos los quesos presentaron similitudes en los niveles de la oxidación lipídica y de proteólisis secundaria. Los quesos elaborados con nata tratada por UHPH más caseinato presentaron menores niveles de lipólisis y compuestos volátiles y mayor dureza y luminosidad en comparación a los quesos elaborados con el tratamiento de pasteurización. Estos resultados concuerdan con lo descrito por los panelistas como quesos con menor aroma y mayor dureza y blancura.

ABSTRACT

Conventional homogenization has been widely used in the food industry, particularly in dairy industry, to reduce the fat globule size, to avoid spontaneous skimming of products, to stabilize the emulsions and to obtain products with novel rheological properties. Ultra-high pressure homogenization (UHPH) is a non-thermal technology based on the same principle of conventional homogenization that employs ten to twenty-fold higher pressures than classical homogenizer. UHPH is able to inactivate microorganisms and enzymes, to reduce particle size until submicron level and to stabilize the emulsions physically and oxidatively.

The aim of this study was to evaluate the effect of UHPH on cream milk and their inclusion as ingredient in the elaboration of reduced-fat cheeses. For this purpose, a preliminary study of the effect of the incorporation of creams treated by UHPH in the skimmed milk was carried out in order to determine the properties of enzymatic coagulation, potential cheese yield and microstructure of gels. Four types of milk were elaborated from pasteurized skimmed milk and pasteurized cream at 65 °C for 30 min (LP), homogenised-pasteurized cream at 15 MPa, 65 °C for 30 min (LPH), cream treated by UHPH at 300 MPa and inlet temperature (T_i) = 40 °C (LUH) and cream added with 1,5% sodium caseinate and treated by UHPH at 300 MPa and T_i = 40 °C (LUHC). The homogenisation treatments modified the enzymatic coagulation properties of milk, reducing the micellar aggregation rate and the gel firmness, in comparison to milk added with pasteurized cream. The UHPH treatment of creams improved the potential cheese yield of milks compare to conventional homogenisation. This yield was higher in cream treated by UHPH added with 1.5% of sodium caseinate, reaching similar yields to those obtained with whole milk.

The next phase was to evaluate the effect of the incorporation of creams treated by UHPH in cheese milk on the physicochemical, microbiological, sensory, colour and texture characteristics of reduced-fat fresh cheeses, compared to cheeses made with creams treated by conventional methods (conventional homogenisation and/or pasteurization) during 7 days of storage at 4 °C. Five different types of fresh cheeses were elaborated from milks at 1,5% of fat, LP, LPH, LUH and LUHC to obtained cheeses reduced in fat QPf, QPHf, QUHf and QUHC, respectively. A cheese with milk at 3,2% of fat was also made by the addition of pasteurized cream (QEf). The homogenisation treatments (conventional and UHPH) of cream produced fresh cheese with a compact protein matrix.

However, the addition of sodium caseinate before UHPH treatment produced reduced-fat cheeses (QUHCf) with textural properties and sensorial characteristics similar to whole milk cheeses, compared to cheese made from treated cream by conventional homogenisation, which was described by the panellist as hardest and with granular texture. Likewise, lipolysis and lipid oxidation was lower in the QUHCf compared to the QPHf.

From the previous study, the best treatments applied in the preparation of fresh cheeses were selected, and a trial of incorporation of cream treated by UHPH in cheese milk was carried out studying the physicochemical, biochemical, sensory, colour and texture characteristics of reduced-fat ripened cheeses, compared to cheese made from pasteurized cream during 60 days of ripening. Three different types of ripened cheeses were elaborated: cheese with milk at 3,2% of fat with NP (QEm) and two reduced-fat cheeses made with LP (QPm) and LUHC (QUHCm), respectively. The reduction of fat content in cheese-making milk produced a decrease in cheese yield, increasing pH and moisture of ripened cheeses compared to those made with whole milk. All matured cheese showed similar lipid oxidation and secondary proteolysis. Cheeses made with cream treated by UHPH more caseinate showed lower levels of lipolysis and volatile compounds and greater hardness and luminosity compared to those made with pasteurization treatment. These results agree with those described by the panelists as cheeses with less aroma and greater hardness and whiteness.

ÍNDICE

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. El queso	3
1.1.1. Términos y denominación.....	3
1.1.2. Producción y consumo de quesos	4
1.1.3. Etapas de fabricación de quesos frescos y madurados.....	5
1.1.4. Composición general del queso	8
1.1.4.1 Agua	8
1.1.4.2 Carbohidratos	9
1.1.4.3 Grasa.....	9
1.1.4.4 Proteína.....	12
1.1.4.5 Vitaminas y minerales	12
1.1.5. Salud y valor nutritivo	14
1.2. El queso reducido en grasa.....	17
1.2.1. Características generales	17
1.2.2. Beneficios e inconvenientes.....	19
1.2.3. Estrategias para mejorar la calidad de los quesos bajos en grasa	20
1.2.3.1 Cultivos adjuntos.....	20
1.2.3.2 Sustitutos de grasa.....	21
1.2.3.3 Técnicas de procesado.....	22
1.3. La homogeneización a ultra-alta presión (UHPH).....	24
1.3.1. Consideraciones generales	24
1.3.2. Equipos de HPH y UHPH.....	25
1.3.3. Efectos de la UHPH sobre la carga microbiana de la leche.....	29
1.3.4. Efectos de la UHPH sobre los componentes de la leche.....	30
1.3.4.1. Tamaño del glóbulo de grasa	30
1.3.4.2. Proteínas	31
1.3.4.3. Inactivación de enzimas	31
1.3.4.4. Minerales	32
1.3.5. Principales efectos de la aplicación de la UHPH en la aptitud tecnológica de la leche para quesería	32
1.3.6. Aplicaciones en la fabricación de quesos	33
1.3.6.1. Quesos frescos	33
1.3.6.2. Quesos madurados	34
1.4. Referencias.....	35

Capítulo 2. INTERÉS DEL ESTUDIO, ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	52
2.1 Interés del estudio	52
2.2. Antecedentes	53
2.3. Objetivos	54
2.3.1. Objetivo general.....	54
2.3.2. Objetivos específicos	54
2.4. Plan de trabajo	54
2.5. Referencias.....	59
Capítulo 3. MATERIALES Y MÉTODOS	63
3.1. Obtención de la nata	63
3.2. Tratamientos de la nata y de la leche desnatada.....	63
3.3. Análisis de la leche y la nata.....	64
3.4. Propiedades de coagulación enzimática, rendimiento potencial queso de las leches, y microestructura de los geles	64
3.4.1 Preparación de las leches	64
3.4.2. Propiedades de coagulación de las leches.....	65
3.4.3. Rendimiento queso potencial de las leches.....	65
3.4.4. Microestructura de las cuajadas mediante microscopía láser confocal.....	65
3.5. Producción de quesos.....	66
3.5.1. Producción de queso fresco.....	66
3.5.2. Producción de queso madurado	66
3.6. Análisis fisicoquímicos de los quesos	67
3.7. Análisis microbiológicos	67
3.8. Proteólisis	68
3.9. Lipólisis	69
3.10. Oxidación lipídica.....	70
3.11. Compuestos volátiles	70
3.12. Análisis instrumental y sensorial	71
3.12.1. Color	71
3.12.2. Análisis de textura.....	71
3.12.3. Análisis sensorial	72
3.13. Análisis estadístico de datos	73
3.14. Referencias.....	73

Capítulo 4. EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA-ALTA PRESIÓN SOBRE LA NATA: APTITUD TECNOLÓGICA DE LAS LECHES DE QUESERÍA Y MICROESTRUCTURA DE LOS GELES ENZIMÁTICOS 77

4.1. Introducción.....	77
4.2. Materiales y métodos	79
4.3. Resultados y discusión	79
4.3.1. Propiedades de coagulación	79
4.3.2. Rendimiento quesoero potencial de las leches.....	81
4.3.3. Microestructura de los geles mediante microscopia láser confocal	82
4.4. Conclusiones	85
4.5. Referencias.....	85

Capítulo 5. EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA-ALTA PRESIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y SENSORIALES DE QUESOS FRESCOS REDUCIDOS EN GRASA 90

5.1. Introducción.....	90
5.2. Materiales y métodos	92
5.3. Resultados y discusión	93
5.3.1. Análisis fisicoquímico	93
5.3.2. Análisis microbiológico	93
5.3.3. Lipólisis.....	96
5.3.4. Oxidación lipídica	100
5.3.5. Compuestos volátiles	102
5.3.6. Análisis instrumental y sensorial	108
5.3.6.1. Color.....	108
5.3.6.2. Textura	110
5.3.6.3. Análisis sensorial.....	115
5.4. Conclusiones	116
5.5. Referencias.....	117

Capítulo 6. EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA-ALTA PRESIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS, BIOQUÍMICAS Y SENSORIALES DE QUESOS MADURADOS REDUCIDOS EN GRASA..... 126

6.1. Introducción.....	126
6.2. Materiales y métodos	128
6.3. Resultados y discusión	128
6.3.1. Análisis fisicoquímico y rendimiento de los quesos.....	128
6.3.2. Proteólisis.....	130

6.3.3. Lipolisis.....	131
6.3.4. Oxidación lipídica.....	134
6.3.5. Compuestos volátiles	135
6.3.6. Análisis instrumental y sensorial	141
6.3.6.1. Color.....	141
6.3.6.2. Análisis de perfil de textura (TPA)	143
6.3.6.3. Análisis sensorial.....	145
6.4. Conclusiones	147
6.5. Referencias.....	148
Capítulo 7. CONCLUSIONES FINALES	157
Anexos	160

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Composición de algunas variedades de quesos (por 100 g).	9
Tabla 1.2. Composición de lípidos de leche de varias especies.....	11
Tabla 1.3. Perfil de ácidos grasos libres de triacilglicerolos de leche de diferentes especies.	11
Tabla 1.4. Contenido de vitaminas y minerales de algunos quesos, por 100 g.	13
Tabla 1.5. Composición de algunas variedades de quesos.	18
Tabla 4.1. Propiedades de coagulación de las leches de quesería adicionadas de natas con diferentes tratamientos.	80
Tabla 4.2. Rendimiento potencial quesoero de muestras de leche entera, pasteurizada, homogenizada-pasteurizada y homogeneizada a ultra-alta presión.....	82
Tabla 5.1. Resultados de la composición fisicoquímica de quesos frescos a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.....	94
Tabla 5.2. Recuento microbiológico (log cfu/g) de los quesos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.....	95
Tabla 5.3. Abundancia de ácidos grasos libres (AGL) de los quesos entero y reducidos en grasa.	97
Tabla 5.4. Oxidación secundaria analizada por TBARs de los quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.....	101
Tabla 5.5. Abundancia de compuestos volátiles (área de pico × 10 ⁵) detectados en la fracción volátil de quesos frescos a 1 y 7 días de almacenamiento.	103
Tabla 5.6. Medidas de color instrumental de los quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.	109
Tabla 5.7. Resultados del análisis de textura por ensayo de compresión uniaxial de los quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.....	111
Tabla 5.8. Análisis de textura por el ensayo de perfil de textura de quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.....	114
Tabla 6.1. Resultados del análisis fisicoquímico y rendimiento de quesos a diferentes días de maduración.	130
Tabla 6.2. Aminoácidos libres totales en los quesos durante la maduración.....	131

Tabla 6.3. Abundancia de ácidos grasos libres de los quesos madurados por un periodo de 60 días.	133
Tabla 6.4. Oxidación secundaria de los quesos madurados a diferentes días de maduración.....	135
Tabla 6.5. Abundancia de compuestos volátiles (área de pico $\times 10^6$) detectados en la fracción volátil de quesos madurados.	137
Tabla 6.6. Medidas de color instrumental de los quesos durante la maduración.....	143
Tabla 6.7. Análisis instrumental del perfil de textura (TPA) de los quesos durante la maduración.....	145
Tabla 6.8. Análisis sensorial de los quesos a 30 y 60 días de maduración.....	146

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Válvulas de homogenización de (a) Manton-Gaulin APV, y (b) Stansted Fluid Power.	27
Figura 1.2. Esquema del equipo UHPH modelo FPG 11300 (*modificación).	27
Figura 2.1. Diagrama de obtención, tratamiento y análisis efectuados en las natas durante su vida útil a 4 °C (Estudio 1).....	56
Figura 2.2. Diagrama de obtención de las leches de quesería y análisis efectuados a los quesos frescos durante su almacenamiento a 4 °C (Estudio 2).	57
Figura 2.3. Diagrama de obtención de las leches de quesería y análisis efectuados a los quesos madurados durante la maduración (Estudio 3).	58
Figura 4.1. Micrografías obtenidas por microscopía laser confocal de los geles enzimáticos elaborados a partir de leche desnatada adicionada de nata tratada por diferentes tecnologías.	84
Figura 5.1. Análisis sensorial de los quesos entero y reducidos en grasa a los 2 días de almacenamiento a 4°C.....	116

Capítulo 1

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

1.1. El queso

1.1.1. Términos y denominación

Según el *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2011), se entiende por queso “al producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante: (a) coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada, leche parcialmente desnatada, nata, nata de suero o leche de mantequilla, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso; y/o (b) técnicas de elaboración que comportan la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en (a)”.

Según el Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos (BOE, 2006), se entiende por queso: “al producto fresco o madurado, sólido o semisólido, obtenido de la leche, de la leche total o parcialmente desnatada, de la nata, del suero de mantequilla o de una mezcla de algunos o de todos estos productos, coagulados total o parcialmente por la acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, antes del desuerado o después de la eliminación parcial de la parte acuosa, con o sin hidrólisis previa de la lactosa, siempre que la relación entre la caseína y las proteínas séricas sea igual o superior a la de la leche”.

El *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2011) ha establecido denominaciones para los quesos en función al contenido de grasa expresada en materia seca: con toda la grasa (superior o igual al 45% e inferior al 60%), semi-graso (superior o igual al 25% e inferior al 45%) y parcialmente desnatado (superior o igual al 10% e inferior al 25%). Sin embargo, cada país establece su propia normativa interna, como es el caso de la regulación de los Estados Unidos en donde un queso reducido en grasa requiere al menos

una reducción del 25% del nivel de grasa, respecto a una variedad de referencia (FDA, 1993). Un queso bajo en grasa puede contener 6 g de grasa por 100 g de queso, y un queso sin grasa, es aquel que contiene menos de 0,5 g de grasa por 100 g de queso. En Europa, el queso puede ser etiquetado como “reducido en grasa”, si la reducción del contenido de grasa es de, como mínimo, el 30% en comparación con un producto similar. Asimismo, la declaración “bajo en grasa” se aplica cuando el producto no contiene más de 3 g de grasa por 100 g de producto. Por otro lado, el término “sin grasa” se aplica si el producto no contiene más de 0,5 g de grasa por 100 g de producto (Reglamento CE 1924, 2006).

1.1.2. Producción y consumo de quesos

Los principales actores del mercado mundial de productos lácteos son: Estados Unidos, la Unión Europea, Nueva Zelanda y Australia (OECD/FAO, 2015). Sin embargo, la producción global de queso está siendo dominada por los países de la Unión Europea y los Estados Unidos, que en conjunto representan más del 70% del volumen total. Dentro de la Unión Europea, los países que presentan mayores ventas de quesos son Francia, Alemania y Los Países Bajos (IDF/FIL, 2017).

La leche de vaca representa ~ 83% del total de la producción mundial de leche, y los quesos de leche de vaca representan más del 80% de la producción mundial de quesos, siendo los restantes los producidos con otros tipos de leche (oveja, cabra, búfala). La producción mundial de quesos se estima que sobrepase los 25 millones de toneladas en el 2020 (IDF/FIL, 2017).

Las importaciones de queso en los países desarrollados son hoy en día más altas que en los países en desarrollo, pero se espera que las importaciones de queso en los países en desarrollo crezcan con un ritmo mucho más rápido (3,6% anual) que en los países desarrollados (0,4% anual), y las importaciones de queso en los países en desarrollo superarían las de los países desarrollados para el 2024. La Federación Rusa es todavía el principal importador, seguido de Japón, Arabia Saudita y Estados Unidos (OECD/FAO, 2015). El volumen de producción de queso fresco se está incrementando en 10-15% en estos últimos años y sigue siendo el más apreciado a nivel mundial, junto al queso Mozzarella (IDF/FIL, 2017).

En el año 2017, la ingesta media de quesos en los hogares españoles fue de 7,66 kg per cápita, de los cuales, 2,11 kg fueron de queso fresco, 1,78 kg de queso semicurado, y 0,86 kg de queso fundido. Por otro lado, el volumen de producción de quesos frescos fue del 27,6% seguido de los quesos semicurados y fundidos, con 23,2% y 11,2%,

respectivamente (MAPAMA, 2018).

1.1.3. Etapas de fabricación de quesos frescos y madurados

Un queso fresco es el que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación (BOE, 2006). En general, existen tres características principales en la fabricación de quesos frescos: no se utilizan por lo general fermentos lácticos, el salado se realiza mediante la adición directa de sal (NaCl) a la leche, y la cuajada se vierte en moldes y se deja escurrir sin realizar ningún prensado (Prieto *et al.*, 1998). Los quesos resultantes son muy suaves, blancos, ligeramente salados, de poco sabor y sin corteza (Medina *et al.*, 1992; Hernando *et al.*, 2000) y se deben consumir preferentemente dentro de 3 a 7 días (Zamora *et al.*, 2012b).

En la fabricación de quesos frescos, generalmente se estandariza el contenido de grasa de la leche y ésta se pasteuriza entre 70 a 80 °C durante 15 a 40 s. Una vez pasteurizada, la leche es calentada de 30 a 37 °C adicionando CaCl₂, posteriormente se añaden las soluciones coagulantes y la sal. El NaCl suele añadirse directamente a la leche antes de la coagulación para una mejor homogeneidad del contenido de sal en el producto final, pero también podría realizarse junto con el suero o después de completar el drenaje (Hnosko *et al.*, 2009). Este proceso contribuye a la reducción de la actividad de agua (a_w), controla la actividad enzimática y el crecimiento de los microorganismos, afecta los cambios fisicoquímicos y bioquímicos y realza el sabor del queso (Guinee y Fox, 2004). La leche se coagula aproximadamente durante 35 min y puede oscilar entre 15 y 45 min, dependiendo de las características de la solución coagulante utilizada. La cuajada es cortada en cubos y no requiere ninguna etapa de cocción (Hnosko *et al.*, 2009). El drenaje del lactosuero puede realizarse por desuerado espontáneo por gravedad y sin prensado (Evert, 2013), aunque, típicamente algunos quesos son prensados en moldes para adquirir forma. En general, los quesos deben ser almacenados a < 8 °C (Farkye, 2004a).

El queso madurado, es el que, tras el proceso de fabricación, no está listo para el consumo, sino que requiere mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y condiciones tales que produzcan cambios físicos y bioquímicos característicos del mismo, durante el proceso de maduración (BOE, 2006; FAO/WHO, 2011). En general, los pasos básicos para la fabricación de quesos madurados son: acidificación, coagulación, concentración (cortado, agitación, prensado), formado (moldeado, prensado), salado y maduración.

En general, la acidificación de la leche empieza una vez añadida los fermentos lácticos a la leche por medio de la transformación de la lactosa en ácido láctico. La acidificación

también puede realizarse añadiendo directamente ácidos orgánicos o bien la glucono- δ -lactona (GDL) a las leches de quesería de algunas variedades de queso, por ejemplo, Mozzarella, Cottage y otros. La GDL es un acidificante progresivo ya que por contacto con el agua se transforma en ácido glucónico que disminuye el pH de la leche hasta los niveles deseados (Fox y McSweeney, 2017).

El proceso de coagulación puede realizarse por acidificación o bien por la acción de enzimas coagulantes. El mecanismo de coagulación enzimática comprende 2 fases: (1) fase enzimática, donde la quimosina o proteasa alternativa cataliza la hidrólisis específica del enlace peptídico Phe₁₀₅-Met₁₀₆ de la κ -caseína (Lucey, 2011), produciendo 2 segmentos (paracaseína κ y caseinomacropéptido); y (2) fase de agregación micelar o no enzimática, es el proceso de agregación que empieza cuando la κ -caseína ha sido hidrolizada en un 85 a 90%. Esta fase es influenciada por la naturaleza y concentración de la enzima, temperatura de coagulación y el pH del medio (Eck, 1990).

Al conjunto de las operaciones de sinéresis y evacuación del lactosuero, se denomina desuerado y la cuajada resultante ocupa entre el 10-30% del volumen original de la leche (Walstra *et al.*, 2006). Además del desuerado en cuba o en molde, los factores directos que influyen en el proceso de desuerado, después de la formación del coágulo son: la temperatura (a mayor temperatura mayor desuerado y extracto seco en el queso) y tratamientos mecánicos (cortado, agitación, moldeado, volteado, prensado, entre otros) (Eck, 1990). La velocidad y el grado de sinéresis también pueden ser controladas por la composición de la leche, especialmente la concentración de Ca⁺⁺, el pH del lactosuero, la velocidad de agitación entre la cuajada y el lactosuero y el tiempo. En este punto realmente comienza la diferenciación de las variedades de quesos, aunque la cantidad y el tipo de cultivo iniciador, el coagulante y la composición de la leche son ciertamente significativos (Holsinger *et al.*, 1995).

El queso maduro suele contener entre 1 y 4% de la sal añadida (Walstra *et al.*, 2006) y se realiza principalmente por inmersión en una salmuera (18-27% de NaCl), a temperaturas que van de 8 a 16 °C. El tiempo de inmersión varía desde 15 min hasta 5 días, dependiendo del tamaño del queso y del tipo de cuajada (Scott *et al.*, 2002). La sal juega un rol importante en la maduración de los quesos, ya que controla la a_w , el crecimiento y actividad microbiana, la actividad enzimática y los cambios físicos en las proteínas del queso, que influyen en la textura y solubilidad mediante cambios en la conformación de la proteína (Holsinger *et al.*, 1995). La presencia de cantidades significativas de sal inhibe parcialmente el metabolismo de las bacterias del cultivo iniciador. Por tal razón, la sal

induce al crecimiento de una flora diferente en la cuajada salada (Scott *et al.*, 2002) e influye sobre la capacidad de conservación, el flavor y la consistencia del queso (Walstra *et al.*, 2006).

En la maduración de los quesos ocurren cambios bioquímicos como la glucólisis, proteólisis y lipólisis. También se producen cambios catabólicos secundarios, como la desaminación, descarboxilación, β -oxidación y formación de ésteres (Holsinger *et al.*, 1995). Estos cambios producen modificaciones importantes en la composición y estructura del queso y, en consecuencia, en su flavor y su textura (Walstra *et al.*, 2006). En general, la maduración de los quesos depende de 4 factores: la temperatura de almacenamiento o maduración, la humedad de la atmósfera, la composición química de la cuajada, y la microflora residual de la cuajada (Scott *et al.*, 2002).

El queso contiene una microbiota compleja incluyendo bacterias, levaduras y mohos (Pintado *et al.*, 2015) que mantienen su viabilidad bajo estrictos criterios de pH, humedad, sal, acidez, potencial redox, disponibilidad de nutrientes, competencia, temperatura, condiciones aeróbicas o anaeróbicas (Johnson, 2001). Las enzimas de los microorganismos relacionados con el queso madurado, y más particularmente las bacterias del ácido láctico (BAL), contribuyen notablemente al desarrollo del sabor y aroma. Estos microorganismos pueden proceder de la leche o ser añadidos intencionadamente durante el proceso de fabricación del queso.

Los microorganismos implicados en la elaboración y maduración del queso se pueden dividir en dos grandes grupos: microorganismos iniciadores pertenecientes a los fermentos utilizados (primarios y secundarios) y bacterias acidolácticas no iniciadoras o no pertenecientes al fermento (BALNS) (Fox *et al.*, 1998). El papel de los cultivos iniciadores primarios es asegurar la producción de ácido durante la elaboración del queso, aunque también está involucrado en procesos de proteólisis y lipólisis durante la maduración. Dentro de este grupo los más frecuentes son *Lactococcus lactis* y *Streptococcus thermophilus*. Los iniciadores secundarios se utilizan para funciones definidas, por ejemplo, la producción de gas en quesos tipo Suizo es debido a la adición de *Propionibacterium shermanii ssp. freudenreichii*, mientras que el *Brevibacterium linens* es el principal contribuyente de la coloración superficial de quesos madurados. El *Penicillium roqueforti* y *Penicillium camemberti* también pueden incluirse en este subgrupo (Johnson, 2001). Por otro lado, las BALNS contribuyen al desarrollo del aroma y sabor de algunas variedades de quesos y podrían considerarse por lo tanto como contaminantes deseables de la leche o del queso. Las especies predominantes son el

Lactobacillus casei, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus curvatus* (Fox *et al.*, 1998).

1.1.4. Composición general del queso

La composición final de cada queso depende en gran medida de la composición de la leche y el proceso de fabricación. Algunos de los factores que podrían influir en la composición de la leche son: el clima, la estación, la alimentación, la edad y raza, etapa de lactación y el estado de salud del animal (Farkye, 2004b). Por otro lado, la composición de los quesos también dependen en gran medida de las condiciones tecnológicas aplicadas por el fabricante (Hnosko *et al.*, 2009). Asimismo, la diversidad de los componentes químicos del queso es determinada por los agentes de maduración tales como, las enzimas endógenas de la leche, los enzimas de los coagulantes utilizados, los cultivos bacterianos o fermentos, la presencia de bacterias lácticas no pertenecientes al fermento, y la eventual adición de proteasas y lipasas exógenas (Hill, 1995).

Las variedades de queso en el mercado son enormes y se refleja en la variabilidad de la composición de los diferentes tipos de queso (Tabla 1.1). Generalmente, los quesos frescos presentan un 41-59% de humedad, 5,3-6,5 de pH, 18-29% de grasa, 17-21% de proteína y de 1-3% de sal (Hnosko *et al.*, 2009), mientras que los quesos maduros presentan de 20-55% de humedad, 20-34% de grasa y de 20-30% de proteína, dependiendo de la variedad (Hill, 1995).

1.1.4.1 Agua

El contenido de agua influye en el deterioro, maduración y propiedades reológicas de los quesos (Jaros *et al.*, 1997). En general, el contenido de agua en los quesos se encuentra en diferentes estados: (1) unida a la estructura de un componente de la cuajada, (2) débilmente mantenida por lábiles fuerzas en contacto con las partículas de la cuajada, y (3) humedad con libertad de movimiento dentro de la cuajada, que actúa como portadora de solutos. Estos estados de agua pueden pasar de una a otra mediante reacciones bioquímicas catalizadas por las enzimas naturales de la leche, del coagulante y/o microbianas (Scott *et al.*, 2002).

La a_w del queso fresco se encuentra en el intervalo 0,985-0,997 mientras que en los quesos madurados entre 0,940 y 0,980 (Hill, 2007). La a_w controla los intercambios de agua entre el queso y el medio ambiente y, por lo tanto, es un parámetro importante que controla la textura e influye en el flavor, estabilidad y seguridad de los quesos (Simatos *et al.*, 2009).

Tabla 1.1. Composición de algunas variedades de quesos (por 100 g) (O'Brien y O'Connor, 2004).

Queso	Agua (g)	Proteína (g)	Grasa (g)	Carbohidratos (g)	Colesterol (mg)	Energía (kcal)
Fresco ¹	70,0	11,0	8,0	3,0	Nd	Nd
Ricotta	72,1	9,4	11,0	2,0	50	144
Cottage	79,1	13,8	3,9	2,1	13	98
Mozarella	49,8	25,1	21,0	Tr	65	289
Emmental	35,7	28,7	29,7	Tr	90	382
Cheddar	36,0	25,5	34,4	0,1	100	412
Camembert	50,7	20,9	23,7	Tr	75	297
Gouda	40,1	24,0	31,0	Tr	100	375

¹ Walther *et al.* (2008).

Nd. No determinado. Tr. Trazas.

Por otro lado, la a_w de los quesos dependerá del proceso de salado (Hill, 2007) y tendrá una gran influencia en la maduración, la actividad enzimática, supervivencia, crecimiento y actividad de los microorganismos (Fox *et al.*, 2015a).

1.1.4.2 Carbohidratos

El principal carbohidrato de los quesos es la lactosa y está presente mayoritariamente en los quesos frescos en una concentración de ~ 30 g/kg (Walther *et al.*, 2008). Durante la fabricación de los quesos, la lactosa se encuentra disuelta en el lactosuero (Bylund, 1995) y es eliminada en un ~ 98% en el proceso de desuerado (Portnoil y MacDonald, 2013). Durante la maduración, la lactosa residual del queso es hidrolizada a ácido láctico por parte de las bacterias del cultivo iniciador (O'Callaghan *et al.*, 2017) y posteriormente puede ser transformada en diferentes compuestos como el diacetilo, acetaldehído, ácido acético, etanol y CO₂ (Walther *et al.*, 2008). En general, los factores que influyen en el contenido final de la lactosa de los quesos madurados son: la temperatura de coagulación, el tipo de cultivo iniciador, la enzima coagulante, el ácido producido y el tiempo de maduración (Portnoil y MacDonald, 2013).

1.1.4.3 Grasa

El contenido de grasa de los quesos frescos es < 12%, mientras que en los quesos madurados oscila entre el 20 y 30% de grasa (Renner, 1993). Generalmente, la expresión utilizada en quesos es la grasa expresada sobre sólidos totales que en quesos frescos es <

40% (Walther *et al.*, 2008), mientras que en los quesos maduros oscila entre 42 y 56% (Guinee y McSweeney, 2006). La grasa del queso contiene aproximadamente 65% de ácidos grasos saturados (AGS), 30% de mono-insaturados (AGM) y 5% poli-insaturados (AGP) (McCarthy *et al.*, 2013). Los AGS poseen una mala imagen por relacionarse con la generación de enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, algunos AGS juegan un papel importante en la regulación celular, biodisponibilidad de AGP, entre otros (Walther *et al.*, 2008). Asimismo, el contenido de colesterol oscila entre 10 y 100 mg por 100 g de queso, contenido que es bajo en comparación a otros alimentos (Fox y Guinee, 2013).

El contenido de grasa de los quesos está determinado por la cantidad de grasa de la leche, tamaño del glóbulo graso, entre otros. En general, la materia grasa de la leche se encuentra en un intervalo de 3-5% (MacGibbon y Taylor, 2006) y está conformada por diferentes lípidos (Tabla 1.2) y ácidos grasos (Tabla 1.3). Los triacilglicéridos representan el 97-98% del total de la grasa láctea y están presentes en la leche en forma de glóbulos de grasa formando una emulsión de aceite en agua (Jensen, 2002), y menos del 1% son fosfolípidos que se encuentran, principalmente, en la membrana del glóbulo graso (MFGM, por sus siglas en inglés) (Fox *et al.*, 2015b).

El diámetro de los glóbulos de grasa pueden variar desde 0,1 a 20 μm (Keenan *et al.*, 1988) y son 30 veces más grandes que las micelas de caseína de mayor tamaño (Damodaran *et al.*, 2008). El número de glóbulos de grasa por mililitro de leche oscila entre 10^{10} y 10^{11} unidades, con un área superficial de 5-11 m^2 por 100 g de leche (Walstra *et al.*, 2006). Los glóbulos de grasa pequeños ($< 1 \mu\text{m}$) son más numerosos y representan el $\sim 80\%$ del número total de glóbulos grasos, pero solo contienen un pequeño porcentaje del total de lípidos. Por otro lado, los glóbulos de grasa intermedios (1-8 μm) contienen más del 90% del total de lípidos. Sin embargo, los glóbulos de grasa más grandes están presentes en menor número, y debido a su volumen, contienen un $\sim 1\%$ de los lípidos totales (Keenan *et al.*, 1988). El tamaño de estos glóbulos también dependen de la raza, el estado de lactación, entre otros factores (Walstra *et al.*, 2006).

Los glóbulos de grasa de la leche están rodeados individualmente por una MFGM que mantiene su integridad y los hace compatibles con el entorno acuoso (Goudéranche *et al.*, 2000), actúa como un agente emulsificador natural, previene la coalescencia de los glóbulos de grasa y protege a la grasa de la degradación enzimática (Singh, 2006). Esta membrana representa el 2-6% de la masa de los glóbulos de grasa (Keenan y Mather, 2006) y está compuesta de lípidos neutros, proteínas, fosfolípidos, enzimas y otros componentes minoritarios (Singh, 2006).

Tabla 1.2. Composición de lípidos de leche de varias especies (Christie, 1983).

Lípidos	% en peso de lípidos totales		
	Vaca ¹	Búfala ¹	Cabra ²
Simple			97 - 99
Triacilgliceroles	97,5	98,6	96,8
Diacilgliceroles	0,36		2,2
Monoacilgliceroles	0,036		0,9
Complejos			1 - 3
Fosfolípidos	0,6	0,5	44,7
Lípidos neutros			46,8
Glucolípidos			8,5
Derivados			
Esteres de colesterol	Trazas	0,1	
Colesterol	0,31	0,3	
Ácidos grasos libres	0,027	0,5	

¹Christie (1983), ²Cerbulis *et al.* (1982).

Tabla 1.3. Perfil de ácidos grasos libres de triacilgliceroles de leche de diferentes especies.

Ácido graso/nombre común	Número de átomos de carbono	Número de dobles enlaces	Nivel típico en grasa de leche (g/100 g de grasa*)		
			Vaca ¹	Oveja ²	Cabra ²
Saturados					
Butírico	4	0	3,9 (2-5)	4,0	3,1
Caproico	6	0	2,5 (1-5)	2,8	2,2
Caprílico	8	0	1,5 (1-3)	2,7	2,4
Cáprico	10	0	3,2 (2-4)	9,0	6,3
Láurico	12	0	3,6 (2-5)	5,4	2,9
Mirístico	14	0	11,1 (8-14)	11,8	7,7
Palmítico	16	0	27,9 (22-35)	25,4	22,0
Estearico	18	0	12,2 (9-14)	9,0	10,6
Insaturados					
Miristoleico	14	1	0,8 (0,5-1,1)		
Palmitoleico	16	1	1,5 (1-3)	3,4	1,9
Oleico	18	1	21,1 (20-30)	20,0	23,7
Linoleico	18	2	2,5 (1-3)	2,1	2,7
Linolénico	18	3	1,0 (0,5-2)	1,4	1,0

¹Guinee y O'Brien (2010), ²MacGibbon y Taylor (2006). Los valores en paréntesis indican el intervalo.

Los lípidos neutros representan el 56-80% del total de lípidos de la MFGM, de los cuáles los triglicéridos son los más abundantes (Vanderghem *et al.*, 2010). Las proteínas representan del 25-70% de la MFGM, de los cuales la butirofilina es la proteína principal (Keenan y Mather, 2006).

1.1.4.4 Proteína

Generalmente, el contenido de proteína de los quesos está influenciado por los sistemas de coagulación (enzimática, ácida), cantidad de proteína presente en la leche y de las pérdidas de la misma en el lactosuero (Walstra *et al.*, 2006). Las proteínas de la leche se subdividen en caseínas y proteínas séricas. Las caseínas representan el ~ 80% de las proteínas totales de la leche y se presentan en forma de micelas, de las cuales, el 92% está constituida por α_{s1} , α_{s2} , β , y κ -caseínas, en una relación de 3:1:3:1 (Varnam y Sutherland, 1994), mientras que el restante 8% está constituido por componentes salinos como el calcio, magnesio, fosfato inorgánico y citrato (Eck, 1990). Por otro lado, las principales proteínas séricas son la β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, y pequeñas cantidades de proteínas de origen sanguíneo como la seroalbúmina y las inmunoglobulinas (Varnam y Sutherland, 1994), aglutininas, lisozima y lactoferrina (Walstra *et al.*, 2006).

El contenido de proteína de los quesos oscila entre ~ 4 y 40% (McCarthy *et al.*, 2013) y tiende a variar inversamente con el contenido de grasa (O'Brien y O'Connor, 2004). La caseína es ligeramente deficiente en aminoácidos azufrados. Por lo tanto, el valor biológico de la proteína del queso (91-97), en la mayoría de las variedades de queso, es inferior a la proteína de la leche (100) (Walther *et al.*, 2008). Sin embargo, las proteínas del queso son más digestibles que las proteínas de la leche, debido a la proteólisis ocurrida durante la maduración (Fox y Guinee, 2013). La maduración del queso implica la hidrólisis de la caseína por medio de las enzimas nativas de la leche, el cuajo y las enzimas bacterianas, en péptidos bioactivos y aminoácidos solubles e insolubles en agua (O'Callaghan *et al.*, 2017).

1.1.4.5 Vitaminas y minerales

El contenido de vitaminas y minerales de diferentes variedades de quesos se muestra en la Tabla 1.4. En general, la mayoría de los quesos son buenas fuentes de vitamina A (retinol), riboflavina, vitamina B₁₂ y en menor medida el ácido fólico (O'Brien y O'Connor, 2004). Las vitaminas liposolubles (A, D, E) de la leche se transfieren casi por completo a los quesos (Fox y Guinee, 2013) y su concentración está influenciada por los

mismos factores que afectan al contenido de grasa (O'Brien y O'Connor, 2004). Por otro lado, las vitamina D y E son relativamente estables durante el almacenamiento y en la mayoría de operaciones de procesamiento de los quesos (Fox *et al.*, 2015c).

La concentración de vitaminas hidrosolubles (tiamina, riboflavina, niacina, pantotenato, folato, B₆ y B₁₂) en los quesos es generalmente más baja que en la leche (O'Brien y O'Connor, 2004) debido a que la mayor parte de éstas (de ~ 40 a ~ 60%) pasan al lactosuero (McCarthy *et al.*, 2013). Sin embargo, en las fases posteriores a la maduración temprana la concentración de vitaminas se incrementa, especialmente en la superficie de algunas variedades de quesos, debido a la biosíntesis de las levaduras y mohos (Fox y Guinee, 2013). En particular, las bacterias del ácido propiónico sintetizan niveles significativos de vitamina B₁₂ en quesos de pasta dura como el Emmental (O'Brien y O'Connor, 2004).

Tabla 1.4. Contenido de vitaminas y minerales de algunos quesos, por 100 g (O'Brien y O'Connor, 2004).

Vitamina/Mineral	Queso				
	Ricotta	Mozzarella	Cottage	Emmental	Cheddar
Retinol (µg)	185	240	44	320	325
Caroteno (µg)	92	170	10	140	225
Vitamina D (µg)	N	0,16	0,03	N	0,26
Vitamina E (mg)	0,03	0,33	0,08	0,44	0,53
Tiamina (mg)	0,02	0,03	0,03	0,05	0,03
Riboflavina (mg)	0,19	0,31	0,26	0,35	0,4
Niacina (mg)	0,09	0,08	0,13	0,1	0,07
Vitamina B ₆ (mg)	0,03	0,09	0,08	0,09	0,1
Vitamina B ₁₂ (µg)	0,3	2,1	0,7	2	1,1
Folato (µg)	N	19	27	20	33
Pantotenato (mg)	N	0,25	0,4	0,4	0,36
Biotina (µg)	N	2,2	3	3	3
Na (mg)	100	610	380	450	670
K (mg)	110	75	89	89	77
Ca (mg)	240	590	73	970	720
Mg (mg)	13	27	9	35	25
P (mg)	170	420	160	590	490
Fe (mg)	0,4	0,3	0,1	0,3	0,3
Zn (mg)	1,3	1,4	0,6	4,4	2,3

N, el nutriente se presenta en cantidades significativas, pero no hay información fiable.

Por otro lado, la mayor concentración de vitamina B₆ se encuentra en quesos Camembert y Brie (~ 0,25 mg/100 g), seguido de quesos muy duros, duros, semiduros y suaves sin madurar, como el queso fresco (~ 0,04 mg/100 g). En general, los quesos maduros presentan mayores concentraciones de folatos y biotina que los quesos de pasta blanda (Fox *et al.*, 2015c).

En general, los quesos son una fuente importante de calcio, fósforo y magnesio (Tabla 1.4). El calcio presente en el queso es altamente biodisponible (Guéguen y Pointillart, 2000) y puede influir en la textura de los quesos (Bylund, 1995). Una porción de 100 g de queso fresco aporta 60-100 mg de Ca, mientras que los quesos de pasta blanda unos 200-500 mg y los quesos de pasta prensada alrededor de 600-1100 mg (Eck, 1990). Sin embargo, el tipo de coagulación (ácida o enzimática) influye significativamente en el contenido de calcio de los quesos. Los quesos obtenidos mediante coagulación ácida presentan valores de ~ 100 mg Ca/100 g debido a la desmineralización de la micela de caseína durante el proceso de acidificación, mientras que los quesos obtenidos por coagulación enzimática contienen ~ 1000 mg Ca/100 g (Walstra *et al.*, 2006). Por otro lado, las mayores pérdidas de calcio ocurren a medida que disminuye el pH del lactosuero (Lucey y Fox, 1993).

1.1.5. Salud y valor nutritivo

El queso es una excelente fuente de proteínas (aminoácidos esenciales), grasas, minerales (calcio, hierro y fósforo), vitaminas (Holsinger, 1995) y con pequeñas cantidades de lactosa, en el caso de quesos madurados (Tabla 1.1). Por lo tanto, la ingesta de este producto resulta ser más beneficioso para la salud de las personas intolerantes a la lactosa que la propia leche (Ferrão *et al.*, 2016).

Las proteínas del queso se encuentran en forma de aminoácidos y oligopéptidos (Holsinger, 1995). Según la FAO/WHO (2002), los aminoácidos esenciales, excepto la metionina y la cisteína, son proporcionados por el queso en cantidades que exceden las recomendaciones tanto para niños y adultos (McCarthy *et al.*, 2013). Las proteínas del queso son fácilmente digestibles y de alta calidad (Holsinger, 1995). La digestibilidad de las proteínas del queso, expresada en cantidad de nitrógeno proteico absorbido por el intestino es del 95%, muy parecida a la del huevo y del mismo orden que de las proteínas de la carne. El Valor Biológico (VB) de las proteínas del queso, expresado en Utilización Proteica Neta (UPN) es muy parecida a la del huevo (85 a 90%) (Eck, 1990). El VB de la proteína del queso es menor que el de la proteína de la leche, debido al paso de proteínas

séricas al suero de quesería durante la producción de los quesos (McCarthy *et al.*, 2013). Sin embargo, algunas de las proteínas del queso son más digestibles que las proteínas de la leche, por la hidrólisis parcial durante la maduración del queso (McSweeney, 2004). No sólo las proteínas y los aminoácidos juegan un papel importante en la nutrición humana. En los últimos 30 años se viene investigando la presencia de diferentes péptidos bioactivos (PB) como producto de las proteínas hidrolizadas. Los PB son secuencias de aminoácidos de pequeño tamaño, entre 2 a 15 aminoácidos, inactivas dentro de la proteína intacta (Walther *et al.*, 2008), pero que pueden activarse al ser liberados bien durante de la digestión del alimento en el organismo del individuo o por un procesado previo del mismo (Meisel, 1998). Los PB pueden ejercer efectos reguladores similares a las hormonas del cuerpo humano (O'Brien y O'Connor, 2004). Sin embargo, la función más conocida y extendida de los PB es la inhibición del enzima convertidor de angiotensina (ECA), disminuyendo así la angiotensina II (un péptido vasoconstrictor) e incrementando la bradiquinina (un péptido vasodilatador) generando una disminución de la presión arterial (McCarthy *et al.*, 2013). Entre otros efectos beneficiosos debido a la presencia de PB se incluyen péptidos con actividad hipocolesterolemizante, antioxidante, antimicrobiana e inmunomoduladora (Mulero *et al.*, 2011). Algunos quesos donde se ha referenciado la presencia de PB inhibidores de la ECA son: Mozzarella, Itálico, Crescenza, Gorgonzola, Camembert, Edam, Gouda, Cheddar, Roquefort, Emmental y Parmesano (Saito *et al.*, 2000).

En general, la mayoría de quesos son buenas fuentes de vitamina A, vitamina B₁₂, riboflavina (McCarthy *et al.*, 2013) y en menor medida el ácido fólico (O'Brien y O'Connor, 2004). De acuerdo a la ingesta diaria recomendada de vitaminas, el consumo de una porción de queso de pasta dura (50 g) aporta hasta un 15% de vitamina A, más del 10% de vitamina B₂, más del 20% de vitamina B₆ y casi el 40% de vitamina B₁₂, respectivamente (Walther *et al.*, 2008). La mayoría de las vitaminas liposolubles (A, D y E) se conservan en la cuajada de queso elaborado con leche entera y está en función de los lípidos (Eck, 1990), mientras que la concentración de vitaminas hidrosolubles es generalmente más baja, debido a las pérdidas en el suero (McCarthy *et al.*, 2013) y la maduración (Eck, 1990). Las concentraciones de las vitaminas del grupo B dependen de diversos factores, tales como el tipo cultivo iniciador y duración del periodo de maduración (Scott *et al.*, 2002), y son eliminadas parcialmente con el lactosuero, quedando retenida un 25% en la cuajada. Por otro lado, la microflora bacteriana y fúngica sintetiza varias vitaminas del grupo B, enriqueciendo con riboflavina, ácido pantoténico,

piridoxina y ácido fólico el queso terminado (Eck, 1990).

El queso también contiene niveles apreciables de calcio, fósforo, magnesio y cinc, y en menor cantidad hierro dietético. El queso tiene un papel potencial en el suministro de calcio extra a la dieta, siendo mayor en quesos coagulados con cuajo que en los coagulados con ácido (O'Brien y O'Connor, 2004). El consumo de una porción de queso semiduro o duro, aporta desde 1/3 a 1/2 partes de calcio en la ingesta diaria recomendada (Walther *et al.*, 2008). Una baja ingesta de calcio en la dieta durante el crecimiento, tiene consecuencias en la salud ósea posterior (Matkovic *et al.*, 2005). El calcio del queso es de fácil asimilación y es altamente biodisponible, al igual que la leche (O'Brien y O'Connor, 2004), debido a las proporciones relativas de calcio/fósforo (Eck, 1990) y la formación de complejos entre el calcio y los péptidos de la caseína, que previenen la precipitación del calcio en el intestino (Ebringer *et al.*, 2008). La biodisponibilidad del calcio junto a los péptidos derivados de la caseína, producidos durante la maduración, ayudan a prevenir la caries dental (Higurashi *et al.*, 2007). Asimismo, una gran cantidad de calcio en el queso ha demostrado tener efectos positivos en diversos trastornos, tales como, la hipertensión, osteoporosis y obesidad (Walther *et al.*, 2008).

Por otro lado, la mayoría de los quesos proporcionan altos niveles de grasa y sodio a la dieta (Ferrão *et al.*, 2016). El contenido de sal en quesos naturales tiende a ser menor que en los quesos procesados, y es importante señalar que el consumo de quesos, incluso en países de alto consumo, contribuyen entre 5 a 8% de la ingesta total de sodio (O'Brien y O'Connor, 2004). El alto contenido relativo de sal en los quesos, a menudo se ha correlacionado con la hipertensión (McCarthy *et al.*, 2013). Sin embargo, el calcio y ciertos péptidos bioactivos, neutralizarían este posible efecto negativo (Walther *et al.*, 2008).

En las últimas décadas la imagen de los quesos se han deteriorado, principalmente debido al contenido de ácidos grasos saturados (Parodi, 2009), que representan el 65% de los lípidos de la leche (Komorowski, 2011). Los ácidos grasos saturados láurico (12:0), mirístico (14:0) y palmítico (16:0) tienen la propiedad de fijar el colesterol en la sangre y son clasificados como aterogénicos (McCarthy *et al.*, 2013). Sin embargo, en los últimos años, los diversos estudios epidemiológicos llevados a cabo sugieren que la ingestión de productos lácteos puede de hecho reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Higurashi *et al.*, 2007). Al respecto, Høstmark *et al.* (2009) demostraron una asociación positiva entre el consumo de queso y el colesterol HDL en diferentes grupos etarios. Contrariamente, Parodi (2004) reportó un ligero aumento del colesterol sanguíneo, como

una respuesta del cuerpo al consumo de 100 mg/día de colesterol dietético (equivalente a ~ 100 g de queso Cheddar). Por lo tanto, la ingesta de la grasa debe ser suficiente como para que el organismo pueda utilizarlo satisfactoriamente, evitando así, la arteriosclerosis (Scott *et al.*, 2002) y enfermedades de lesión de los tejidos asociados con la oxidación de lípidos (Katsiari *et al.*, 2002).

1.2. El queso reducido en grasa

1.2.1. Características generales

El contenido de grasa de los quesos bajos en grasa está determinado por el tenor de grasa de la leche que oscila generalmente entre < 0,5 y 1,8% de grasa. Estas leches presentan contenidos ligeramente superiores de proteína y de relación caseína/grasa, pero con menor contenido de sólidos totales en comparación a la leche entera (Mistry, 2001). La grasa es el componente principal de la mayoría de las variedades de quesos y su modificación producen cambios concomitantes en los niveles de humedad, proteína y rendimiento (Guinee y McSweeney, 2006).

Varios autores han investigado el efecto del tenor de grasa de la leche en la composición de varios tipos de quesos reducidos en grasa, tales como el queso Cheddar (Bryant *et al.*, 1995; Ustunol *et al.*, 1995; Drake *et al.*, 1996; Fenelon y Guinee, 1999), queso Mozzarella (Tunick *et al.*, 1991, 1993; Rudan *et al.*, 1999), Feta (Katsiari y Voutsinas, 1994) y queso fresco Kashar (Koca y Metin, 2004). En general, en estudios donde las condiciones de fabricación de quesos se mantienen constantes, la reducción del contenido de grasa en los quesos produce incrementos en el contenido de humedad y proteína (Tabla 1.5). Estos incrementos pueden atribuirse según Sundar y Upadhyay (1990) a la mayor relación de caseína/grasa presente en las leches estandarizadas que se manifiestan en los quesos reducidos en grasa. Por otro lado, el incremento de proteína contribuiría al incremento de la humedad, debido a la capacidad de retención de agua que ésta presenta (Katsiari y Voutsinas, 1994).

La reducción del contenido de grasa de los quesos también produce incrementos en el pH y disminuciones de humedad en sustancia no grasa (MNFS, por sus siglas en inglés) y de grasa expresada en materia seca (FDM, por sus siglas en inglés) (Tabla 1.5). El incremento del pH de los queso a medida que se reduce el contenido de grasa puede atribuirse a la disminución de los niveles de MNFS y la relación lactato/proteína (Fenelon y Guinee, 2000). Fenelon y Guinee (1999) observaron disminuciones de 0,2 g MNFS/g de grasa y 1,5 g FDM/g al reducir el contenido de grasa de 33 a 6% en quesos Cheddar.

Se ha descrito que el rendimiento quesero está influenciado por el contenido de grasa de la leche. El rendimiento total (kilogramos de queso por 100 kg leche) de los quesos bajos en grasa son menores que los quesos enteros, debido a que la cantidad de grasa extraída no es igual a la cantidad de humedad añadida (Mistry, 2001). Fenelon y Guinee (1999) evaluaron el efecto del tenor graso de la leche en el rendimiento de quesos Cheddar, reportándose rendimientos de 6,37; 7,49; 8,09 y 9,50% para leches con contenido de grasa de 0,54; 1,5; 2,0 y 3,33%, respectivamente, y atribuido al incremento de la humedad asociada a la proteína del queso, y a la correlación positiva entre la grasa de la leche y la MNFS del queso. Rudan *et al.* (1999) también reportaron rendimientos de 6,59; 7,13; 8,03 y 9,20% en quesos Mozzarella elaborados a partir de leche estandarizada con 0,4; 0,8; 1,6 y 3,2% de grasa, respectivamente.

La grasa distribuida uniformemente dentro de la matriz de caseína, proporciona una textura típica en un queso elaborado con leche entera (Johnson y Chen, 1995). Sin embargo, a medida que el contenido de grasa disminuye, aumenta la concentración de proteínas, se modifica la textura y se obtienen quesos más firmes, duros, secos y granulados (Banks, 2007). Para contrarrestar los defectos de textura de los quesos bajos en grasa, la MNFS debe ser igual al del queso entero (Mistry, 2001).

Tabla 1.5. Composición de algunas variedades de quesos (Guinee y McSweeney, 2006).

Queso	Grasa (%)	Humedad (%)	Proteína (%)	MNFS (%)	Ca P		pH
					(mg/100g)		
Cheddar							
Bajo en grasa	7,2	46,1	38,5	49,6	1097	839	5,52
Reducido en grasa	21,9	40,9	31,0	52,4	872	639	5,37
Entero	30,4	37,8	26,4	57,0	742	533	5,25
Mozzarella							
Bajo en grasa	5,0	62,5	30,4	64,5	Nd	Nd	Nd
Reducido en grasa	12,3	48,5	32,8	55,3	Nd	Nd	Nd
Entero	21,2	47,0	25,5	59,9	Nd	Nd	Nd
Feta							
	6,5	66,8	20,1	71,4	Nd	Nd	4,68
	21,9	56,4	15,9	72,2	Nd	Nd	4,57
Kefalograviera							
	9,8	48,4	33,4	53,6	Nd	Nd	5,40
	30,6	37,8	26,1	54,4	Nd	Nd	5,49

Nd. No determinado.

Otra característica de los quesos bajos en grasa es el amargor que éstos presentan por la excesiva acumulación de péptidos hidrofóbicos (Rodríguez, 1998), como resultado de la sobreproducción o degradación inadecuada de las proteínas por las peptidasas microbianas (McSweeney, 2007). Los compuestos tales como los aminoácidos, aminos, amidas, amidas substituidas, cetonas de cadena larga, algunos monoglicéridos, entre otros, también contribuyen al amargor de los quesos. El sabor amargo puede ser particularmente problemático en los quesos bajos en grasa, presumiblemente como resultado de la partición reducida de los péptidos hidrofóbicos en la fase grasa. Aunque estos péptidos amargos pueden originarse a partir de las caseínas α_{s1} o β , es la acción de la quimosina y/o de la proteinasa de la envoltura celular de los lactococos sobre la región c-terminal hidrofóbica de la β -caseína la que se asocia principalmente con la producción de péptidos amargos (Mcsweeney, 1997).

1.2.2. Beneficios e inconvenientes

En general, los productos lácteos reducidos en grasa fueron impulsados con el propósito de permitir alternativas para controlar la ingesta diaria de calorías en las personas (Childs y Drake, 2009). Las directrices dietéticas en los Estados Unidos y la mayoría de países industrializados recomiendan una reducción de la grasa en la dieta hasta un 30% de la energía total (Mistry, 2001; Banks, 2007). Sin embargo, en los países mediterráneos como Francia, Italia y España, los patrones de alimentación tradicional continúan teniendo una fuerte influencia en el mercado, resultando en una demanda por el sabor y autenticidad en lugar de la reducción de las calorías de alimentos reducidos en grasa (Banks, 2007).

Entre otras razones para el consumo de productos lácteos bajos en grasa o sin grasa en la alimentación son: la mejora de la salud en general, reducción de las calorías, reducción del colesterol y mantenimiento del peso corporal correcto (Holsinger, 1995). Los productos lácteos bajos en grasa son recomendados para su consumo diario (Ritvanen *et al.*, 2010), debido a las crecientes tasas de obesidad, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, presión arterial elevada y enfermedades de lesión de los tejidos asociados con la oxidación de lípidos (Katsiari *et al.*, 2002).

Por otro lado, los quesos reducidos en grasa se describen como los que tienen defectos en la textura y sabor indeseable (O'Connor y O'Brien, 2011). Los defectos tales como, la falta de sabor característico, flavor reducido, amargor, textura firme, pérdida de suavidad, mayor elasticidad y granulosidad son característicos en los quesos reducidos en grasa (Mistry, 2001), afectan su aceptación por parte de los consumidores (Fox y Guinee, 2013)

y tienden a reducir su calidad después de pocos meses de almacenamiento (Johnson y Chen, 1995). Por otro lado, las propiedades funcionales (capacidad de fusión, cremado, capacidad de rallado grueso y apariencia) de los quesos Mozzarella bajos en grasa tampoco son adecuadas (Mistry, 2001). Por esta razón, se han desarrollado diversas investigaciones con el objetivo de contribuir a la mejora de la calidad de los quesos bajos en grasa para obtener características similares a los elaborados con leche entera (Mohamed, 2015).

1.2.3. Estrategias para mejorar la calidad de los quesos bajos en grasa

1.2.3.1 Cultivos adjuntos

Los cultivos adjuntos pueden definirse como cepas seleccionadas de microorganismos que se añaden a la leche para mejorar la calidad sensorial del queso (El Soda *et al.*, 2000). Los cultivos adjuntos más comúnmente utilizados son *Lactobacillus* spp. Los lactobacilos primarios más utilizados son los mesofílicos (*Lactobacillus casei*) y los termofílicos (*Lactobacillus helveticus* y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) (Drake y Swanson, 1995). El uso de cultivos adjuntos pueden mejorar la funcionalidad y el flavor de los quesos reducidos y bajos en grasa mediante el incremento de la proteólisis, específicamente la actividad amino-peptidasa, que reduce el amargor e incrementa las concentraciones deseables de péptidos y precursores del flavor (Drake y Swanson, 1995; Mistry, 2001). Es deseable contar con cultivos de baja actividad proteolítica, pero de alta actividad peptidolítica (Mistry, 2001). Por lo tanto, la selección apropiada de cultivos adjuntos es un aspecto importante en la producción exitosa del queso reducido en grasa (Tarakci y Tunçturk, 2008). Tungjaroenchai *et al.* (2001) observaron mayor actividad aminopeptidasa con el *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* que el *L. helveticus*, *L. reuteri*, y *Brevibacterium linens* en quesos Edam reducidos en grasa. Asimismo, la adición de *L. helveticus* y *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* como cultivos adjuntos produjo un incremento de la proteólisis. El Soda *et al.* (2000) observaron mejoras de la calidad sensorial de quesos Cheddar reducidos en grasa elaborados con cultivos adjuntos de *L. casei*, *L. helveticus*, *Lc. Lactis* subsp *lactis* biovar. *diaceylactis* y *Br. linens*. Johnson y Chen (1995) también reportaron una mayor preferencia por los quesos Cheddar reducidos en grasa y elaborados con *L. helveticus* CNRZ 32. Por otro lado, la actividad proteolítica del *L. casei* subsp. *casei*, fue útil en el desarrollo de propiedades funcionales del queso Mozzarella bajo en grasa (Mistry, 2001).

1.2.3.2 Sustitutos de grasa

Una estrategia para mejorar el flavor y textura de los quesos bajos en grasa es el uso de sustitutos y/o miméticos de grasa (Johnson y Chen, 1995). Los sustitutos de grasa son materiales que poseen similar propiedad física y funcional que la grasa natural pero que reduce el contenido de calorías del alimento (Rodríguez, 1998). Los miméticos de grasa, son materiales microparticulados a base de carbohidratos o proteínas del suero, que imitan las propiedades de la grasa natural y puede mejorar las características de los quesos bajos en grasa mediante la retención de agua y mejora de la textura y rendimiento (Banks, 2004; Farkye y Guinee, 2017).

Se han utilizado diversos miméticos de grasa de base proteína de suero (Simplese® y Dayri Lo®) para elaborar quesos Mozzarella y Cheddar bajos en grasa (Lucey y Gorry, 1993; McMahon *et al.*, 1996; Fenelon y Guinee, 1997; Aryana y Haque, 2001). Estos quesos añadidos de miméticos de grasa presentaron altos niveles de agua y MNFS con una textura suave (Lucey y Gorry, 1993; Fenelon y Guinee, 1997; Aryana y Haque, 2001) y con mayor capacidad de fusión (McMahon *et al.*, 1996). El caseinato de sodio también es un mimético de grasa de base proteína que ha sido utilizado en la fabricación de diferentes tipos de quesos (Lobato-Calleros *et al.*, 2000; Nateghi *et al.*, 2012). Los caseinatos son productos desecados por pulverización, solubles en agua y no presentan ningún flavor (Walstra *et al.*, 2006). La composición típica del caseinato de sodio es: humedad 3,8%, proteína (N×6,38) 91,4%, grasa 1,1%, lactosa 0,1%, ceniza 3,6%, sodio 1,2-1,4%, calcio 0,1% y pH 6,5-6,9 (Bylund, 1995). Una de las propiedades funcionales del caseinato de sodio es su alta capacidad de retención de agua en la matriz proteica de los quesos (Lobato-Calleros *et al.*, 2000; Nateghi *et al.*, 2012). Otro mimético a base de moléculas de triacilglicéridos de cadena corta y larga es el Salatrim®. Rudan *et al.* (1998) obtuvieron quesos Mozzarella reducidos en grasa a partir de nata ligera homogenizada con adición de Salatrim®. Este mimético produjo menores pérdidas de grasa en el lactosuero e incrementó el rendimiento; sin embargo, fue señalado como el principal responsable de la pérdida del color amarillo de los quesos en comparación a los quesos sin adición de mimético. Otros miméticos de base de carbohidratos utilizados en la fabricación de quesos Mozzarella y Cheddar bajos en grasa han sido Stellar™ y Novagel™ (McMahon *et al.*, 1996; Aryana y Haque, 2001). El uso de Stellar™ produjo una mayor capacidad de fusión, mientras que el Novagel™, produjo una estructura abierta en los quesos Mozzarella bajos en grasa en comparación a los quesos sin adición de miméticos (McMahon *et al.*, 1996).

1.2.3.3 Técnicas de procesado

Los procesos de membrana como la ultrafiltración (UF) y microfiltración (MF) de la leche también han sido utilizados para la mejora del rendimiento de los quesos bajos en grasa (St-Gelais *et al.*, 1998; Goudédranche *et al.*, 2000). La UF de leche baja en grasa destinada a quesería puede mejorar el flavor y textura de los quesos mediante 1) la disminución de la cantidad de lactosa disponible en la leche y controlando la velocidad de acidificación, y (2) el incremento del contenido de proteína del queso, produciéndose una retención adicional de humedad (Drake y Swanson, 1995). La MF de la leche permite una separación selectiva de los glóbulos de grasa de acuerdo a su tamaño y sin dañar su membrana superficial. La separación se logra mediante el uso de membranas cerámicas de MF con poros de 2-5 μm de tamaño (Mistry, 2001). Rodríguez *et al.* (1999) evaluaron el efecto de la aplicación de 2 membranas de separación (UF y MF) de la leche en el rendimiento, composición, textura y microestructura de quesos semiduros bajos en grasa. Los resultados mostraron una mejora de la textura y preferencia de los quesos elaborados con leche tratada por MF en comparación a los elaborados con UF.

La suplementación de la leche con proteínas del suero microparticulada (MPW, por sus siglas en inglés) ha sido ampliamente utilizada en la elaboración de quesos bajos en grasa (Masotti *et al.*, 2017). Sin embargo, la adición excesiva de MPW interfiere en la formación de la cuajada y afecta negativamente la calidad del queso (Guinee *et al.*, 1998). Por ello, Schreiber *et al.* (1998) sugirieron el uso de concentraciones $< 0,5\%$ de este tipo de producto. En general, la adición de MPW a la leche de fabricación quesera produce aumentos en la capacidad de retención de agua en los quesos. Lo y Bastian (1998) observaron un alto contenido de humedad en quesos tipo Havarti reducidos en grasa elaborados a partir de leche suplementada con MPW y tratada por UF en comparación a los quesos tradicionales. Por otro lado, Di Cagno *et al.* (2014) reportaron incrementos en el rendimiento de quesos tipo Caciotta bajos en grasa elaborado con MPW y atribuido al incremento del contenido de humedad. Stankey *et al.* (2017) también observaron incrementos significativos en el rendimiento de quesos Cheddar bajos en grasa elaborados a partir de leche suplementada con 0,5% de MPW en comparación a los quesos elaborados con leche sin adición de MPW. Dicho incremento fue atribuido al mayor contenido de humedad y la incorporación de MPW en los quesos.

La adición directa de suero de mantequilla a la leche también ayuda a retener mejor la humedad en quesos bajos en grasa. Sin embargo, este procedimiento requiere de grandes volúmenes de suero de mantequilla (por encima de $\sim 30\%$). Frente a ello, la concentración

por UF del suero de mantequilla vendría a ser una alternativa para su utilización en la fabricación de quesos. Este enfoque también fue aplicado en la fabricación de quesos Cheddar bajos en grasa (Mistry *et al.*, 1996), quesos Mozzarella bajos en grasa (Poduval y Mistry, 1999) y quesos procesados bajos en grasa (Raval y Mistry, 1999). Utilizando concentraciones inferiores a 5% de suero de mantequilla UF se logró retener mejor la humedad y se obtuvo quesos Cheddar reducidos en grasa con mejor cuerpo y textura (Mistry *et al.*, 1996).

En la fabricación de quesos reducidos en grasa también se ha utilizado procesos de estandarización de leches reducidas en grasa en términos de caseína/grasa. Generalmente, la estandarización se realiza mediante la adición de leche desnatada en polvo (Johnson y Chen, 1995). A medida que incrementa el valor de la relación caseína/grasa de la leche se disminuye el contenido de FDM y el rendimiento (Sundar y Upadhyay, 1990). Se recomiendan relaciones de caseína/grasa de 1,58 y 2,4 en la leche para la elaboración de quesos Cheddar con 33% de grasa reducida y quesos Mozzarella con 50% de grasa reducida, respectivamente (Mistry, 2001). Sundar y Upadhyay (1990) evaluaron el efecto de varias relaciones de caseína/grasa en leches de búfala y utilizadas en la fabricación de quesos Mozzarella. Los resultados mostraron incrementos en el rendimiento de quesos de 13,8 a 16,5% a medida que disminuyó las relaciones de caseína/grasa de 0,9 a 0,5, respectivamente. Asimismo, las relaciones de caseína/grasa de la leche influyeron significativamente en los contenidos de FDM y proteína de los quesos.

Se han desarrollado procesos de homogenización de la leche con el propósito de mejorar el cuerpo y textura de los quesos bajos en grasa (Mistry, 2001). Sin embargo, los quesos resultantes producidos a partir de leche homogeneizada presentan modificaciones de la red proteica, alterando negativamente su estructura básica (Nair *et al.*, 2000) e incrementando su firmeza (Coutouly *et al.*, 2014). Asimismo, estos tratamientos evitan la formación de fuerzas interfaciales entre la nueva superficie de los glóbulos grasos creada debido al tratamiento de homogenización y las micelas de caseína, produciéndose roturas de la cuajada y pérdida del rendimiento (Mistry, 2001). En general, no se recomienda la homogeneización de la leche para la fabricación del queso, debido a sus efectos nocivos en el sabor y textura del queso madurado (Jana y Upadhyay, 1992). Estos resultados han llevado al concepto de homogeneización selectiva en donde se homogeneiza solamente la fracción grasa (nata) separada de la parte proteica principal.

Se han realizado estudios de homogeneización de la nata como una herramienta de proceso para la mejora de quesos Cheddar (Metzger y Mistry, 1994, 1995), Mozzarella

(Rudan *et al.*, 1998; Poduval y Mistry, 1999), queso blanco Iraní (Madadlou *et al.*, 2007) y Turco (Karaman y Akalin, 2013) reducidos y bajos en grasa. Aunque las pérdidas de proteína fueron mayores (Karaman *et al.*, 2012), esta tecnología ha sido utilizada principalmente para incrementar la humedad (Mistry, 2001), reducir las pérdidas de grasa en el lactosuero (Metzger y Mistry, 1994; Rudan *et al.*, 1998; Nair *et al.*, 2000; Karaman y Akalin, 2013), incrementar la velocidad de hidrólisis de los lípidos e incrementar el rendimiento (Rudan *et al.*, 1998; Madadlou *et al.*, 2007). Metzger and Mistry (1994) reportaron mayores rendimientos (~ 3%) en quesos Cheddar reducidos en grasa y elaborados con nata homogeneizada (~ 17 MPa, 2 etapas), en comparación a las muestras de leche sin ningún tratamiento y atribuida principalmente a una menor pérdida de grasa y proteína en el suero. Nair *et al.* (2000) también evaluaron el efecto de diferentes presiones de homogenización de 2 etapas aplicada a la nata y su utilización como insumo en la elaboración de quesos Cheddar. El rendimiento de los quesos mejoró de 1,42 a 3,85% a medida que se incrementaba las presiones de homogenización de 3,5 a 10,4 MPa debido a una mejor recuperación de grasa y proteína de los quesos.

1.3. La homogeneización a ultra-alta presión (UHPH)

1.3.1. Consideraciones generales

La homogeneización se define como el proceso de división de grandes glóbulos de grasa polidispersos de una emulsión aceite en agua, en un gran número de glóbulos grasos pequeños de tamaño menor y de manera homogénea (Michalski y Januel, 2006). Esta reducción homogénea del tamaño, se logra forzando el paso de las partículas suspendidas en el fluido, a alta presión, a través de una válvula diseñada para tal finalidad (Donsì *et al.*, 2009). Los homogeneizadores pueden estar equipados con dos válvulas conectadas en serie; una primera válvula de homogeneización que trabaja a mayor presión (conocida también como primera etapa), y una segunda válvula (o segunda etapa) que trabaja a presiones de homogeneización inferiores (normalmente de 10-20% de la presión de la primera válvula). Los efectos combinados de estas dos válvulas permiten la obtención de emulsiones mucho más estables físicamente, con menor cantidad de agregados de partículas en suspensión (Walstra *et al.*, 2006).

En el año 1900, Auguste Gaulin, desarrolló la primera válvula de homogeneización, mediante la cual surgió una alternativa tecnológica para la estabilización de emulsiones alimentarias. Desde ese momento, la homogeneización se ha aplicado ampliamente en las industrias química, farmacéutica y alimentaria para la estabilización de emulsiones y la

obtención de productos con nuevas propiedades reológicas (Floury *et al.*, 2000; Thiebaud *et al.*, 2003). El homogeneizador diseñado por Gaulin, es conocido actualmente como homogeneizador convencional.

En la industria láctea, las presiones utilizadas en los homogeneizadores convencionales oscilan de ~ 20 a 60 MPa (Dumay *et al.*, 2013) con el propósito principal de reducir el tamaño de los glóbulos de grasa (Coutouly *et al.*, 2014). En general, el tamaño de los glóbulos grasos nativos de la leche se encuentra mayormente en 1-10 μm . Sin embargo, con el proceso de homogeneización se consigue reducir el tamaño ($< 1 \mu\text{m}$) (Hayes y Kelly, 2003a) e incrementar la superficie (5-10 veces) de los nuevos glóbulos de grasa (Keenan *et al.*, 1983). Por otro lado, la homogeneización también ha sido utilizada ampliamente en emulsiones para evitar los fenómenos de desestabilización, clarificación y cremado (Thiebaud *et al.*, 2003).

Dependiendo del nivel de presión nominal, la tecnología se denominará homogeneización a alta presión (HPH, ~ 150 a 200 MPa) o homogeneización a ultra-alta presión (UHPH, ~ 350 a 400 MPa) (Dumay *et al.*, 2013). La HPH y UHPH son tratamientos no térmicos que se basa en los mismos principios que la homogeneización convencional, pero gracias al diferente diseño de la geometría de la cámara de reacción y el tipo de material, puede alcanzar presiones de 10 a 20 veces superior a los homogeneizadores clásicos (Paquin, 1999).

En general, los beneficios de la HPH y UHPH incluyen, la prolongación de la vida útil a través de la inactivación de microorganismos y mejoras en la funcionalidad de varias matrices alimentarias (Patrignani y Lanciotti, 2016) debido al aumento de la capacidad y estabilidad de la emulsión, con mínimos efectos sobre el valor nutricional y las características sensoriales (Zamora y Guamis, 2015). Entre otras ventajas importantes de esta tecnología están la reducción del tamaño del glóbulo de grasa (Thiebaud *et al.*, 2003), la desfloculación de agregados de glóbulos de grasa y la dispersión uniforme de aglomerados (Floury *et al.*, 2000), cambios en la conformación de la proteína, aumento de la viscosidad y estabilidad de la emulsión (Desrumaux y Marcand, 2002) e inactivación de enzimas (Hayes *et al.*, 2005).

1.3.2. Equipos de HPH y UHPH

Desde un punto de vista tecnológico, un homogeneizador consta principalmente de una bomba y una válvula de homogeneización. La bomba se utiliza para forzar el paso del fluido dentro de la válvula donde se produce la homogeneización (Diels y Michiels,

2006). Cuando el fluido pasa por la válvula, este es sometido a caída repentina de presión, fenómenos de cizalla, impacto, cavitación, esfuerzo de corte y turbulencia (Paquin, 1999; Patrignani y Lanciotti, 2016), causando la disrupción de sus partículas, incrementos de temperatura y una reducción concomitante de la carga microbiana (Thiebaud *et al.*, 2003). A principios de los años 80 una nueva tecnología fue introducida para la producción de emulsiones finas, basada en la disponibilidad de dispositivos capaces de generar y manejar presiones en líquidos por encima de 100 MPa, y presiones muy altas de 350 a 500 MPa con nuevos diseños en la cámara de homogenización (Donsì *et al.*, 2009). En el año 1987, el equipo *Microfluidizer* de la Corporación Microfluidics (Estados Unidos) fue introducido en la industria alimentaria alcanzando presiones de 100 MPa (Paquin, 1999). Los modelos *Emulsiflex*, desarrollados por la compañía Avestin (Canadá), fueron semejantes a un homogeneizador convencional, pero con un diseño novedoso de las válvulas que permitió alcanzar presiones de 220 MPa (Paquin, 1999), aunque actualmente son capaces de alcanzar presiones de hasta 300 MPa, por medio del ajuste micrométrico de la boquilla y el uso de materiales altamente resistentes al desgaste tales como el acero inoxidable o cerámica. El uso de los homogeneizadores *Emulsiflex* se describen para la ruptura de suspensiones celulares a presiones comprendidas entre 100 y 300 MPa, así como, para la producción de nanosuspensiones y desnaturalización de proteínas (Donsì *et al.*, 2009). Otros fabricantes de homogeneizadores a alta presión son Bee International (Estados Unidos), Gea Niro Soavi (Italia) y APV (Reino Unido), los cuales proponen dispositivos piloto capaces de ejercer presiones de homogenización de 100 a 200 MPa, para un flujo promedio de 160 L/h a 200 MPa (Zamora y Guamis, 2015).

Diversos autores (Middelberg, 1995; Pandolfe, 1999; Miller *et al.*, 2002) centraron sus esfuerzos en el estudio de los procesos físicos responsables de la ruptura de los glóbulos de grasa y microorganismos en homogeneizadores clásicos de alta presión, tales como el APV-Gaulin y Rannie (Figura 1.1a). En la válvula homogeneizadora clásica, el fluido es alimentado axialmente en el asiento de la válvula y luego se acelera radialmente hacia un pequeño orificio denominado “espacio de válvula” comprendida entre el pistón y el asiento de válvula. Una vez que el fluido sale del espacio de válvula (10 a 30 μm), se convierte en un chorro radial que impacta contra el cabezal de la válvula antes de salir del homogeneizador a presión atmosférica (Kleinig y Middelberg, 1998). La presión de funcionamiento se controla ajustando el espacio de válvula (Patrignani y Lanciotti, 2016) y reduciendo este espacio, se logra incrementar la presión del homogeneizador (Donsì *et al.*, 2009).

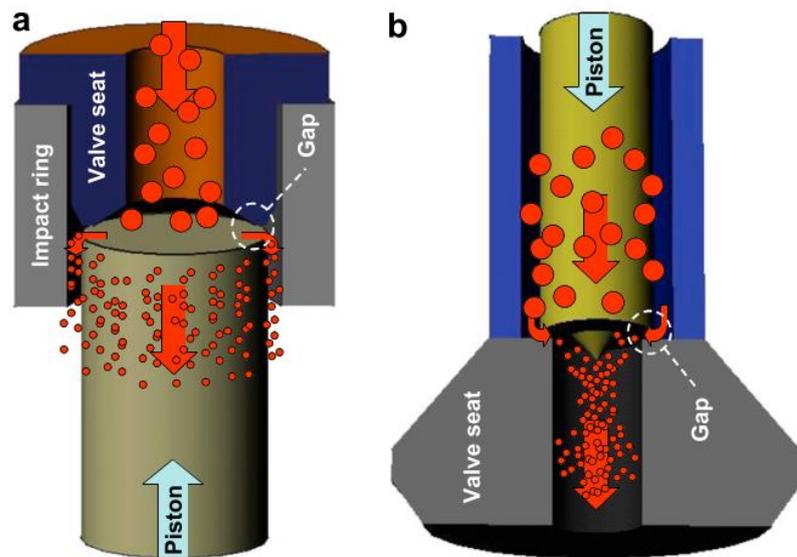


Figura 1.1. Válvulas de homogenización de (a) Manton-Gaulin APV, y (b) Stansted Fluid Power (Donsi *et al.*, 2009).

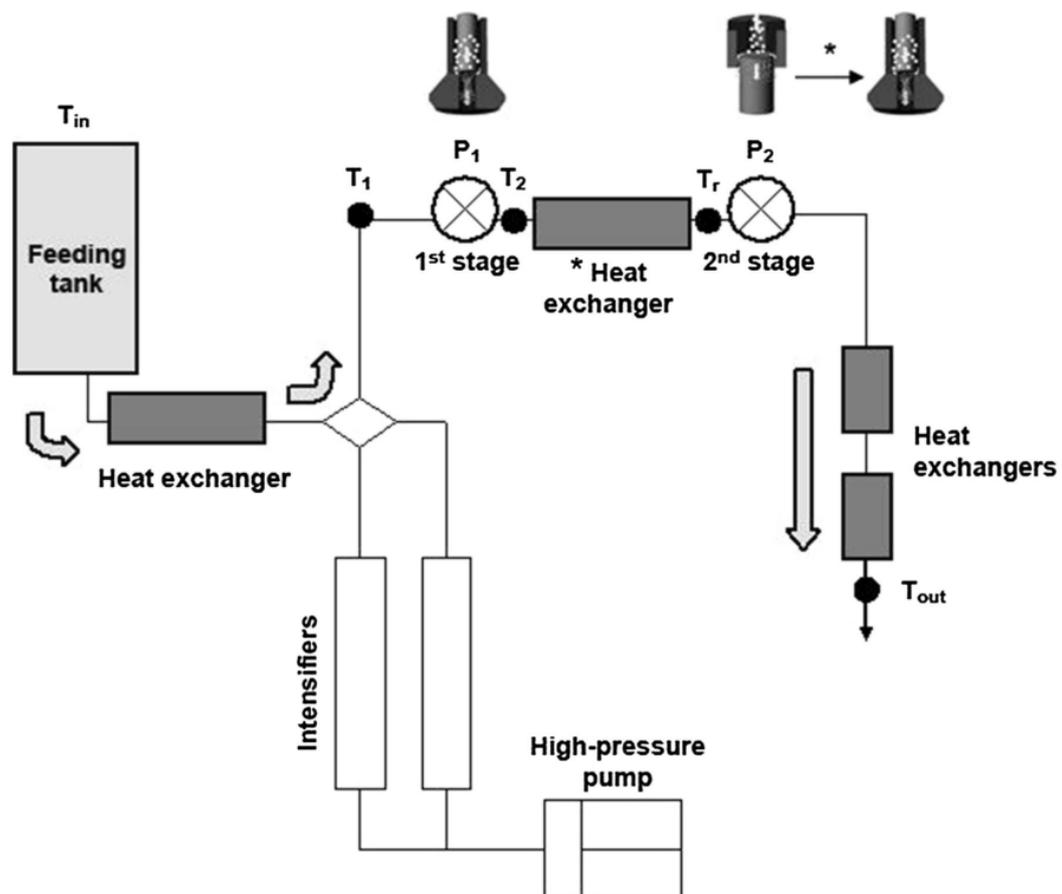


Figura 1.2. Esquema del equipo UHPH modelo FPG 11300 (*modificación) (Zamora y Guamis, 2015).

En el año 2006, la empresa Stansted Fluid Power Ltd. (Reino Unido) modificó la geometría de la válvula de homogenización Stansted (Figura 1.1b) en comparación a la clásica APV-Gaulin. Las válvulas Stansted fueron modificadas con asientos y agujas contruidos en cerámica (Zamora y Guamis, 2015) o revestidos con diamante artificial (Dumay *et al.*, 2013), material que es conocido por soportar los niveles de presión utilizados en los procesos de HPH y UHPH (Patrignani y Lanciotti, 2016). En las válvulas Stansted, el fluido se alimenta axialmente a lo largo de la parte móvil de la válvula (pistón) y luego se acelera radialmente a través del estrecho espacio entre la válvula y el asiento de válvula (Donsì *et al.*, 2013). El tamaño de la abertura ($\sim 2,0$ a $2,5 \mu\text{m}$), la velocidad del fluido y la presión a la cual el fluido es sometido, dependen de la fuerza que actúa sobre el pistón de la válvula, que puede ajustarse para regular la intensidad de la homogeneización. La caída de presión del líquido en la válvula se denomina presión de homogeneización. El homogeneizador Stansted está equipado con dos válvulas de homogeneización para indicar la presión y temperatura del fluido (Donsì *et al.*, 2009). La primera válvula es de alta presión, mientras que la segunda válvula es de baja presión (Dumay *et al.*, 2013). Por lo tanto, se pueden realizar procesos utilizando la primera válvula de presión (primera etapa) o la segunda válvula de presión (segunda etapa) o una combinación de ambas.

Actualmente existen empresas que ofrecen la posibilidad de construir prototipos capaces de superar los 300 MPa, por ejemplo, UHP 4000 de Gea Niro Saovi o NanoDeBee® de Bee International. Sin embargo, debe destacarse que el diseño de las válvulas difieren drásticamente de las válvulas Stansted (Zamora y Guamis, 2015). La geometría de las válvulas de homogeneización parecen ser un factor muy importante que influyen en el flujo de la emulsión y la ruptura del tamaño de las partículas (Tesch *et al.*, 2003) e inactivación microbiana (Middelberg, 1995). Al respecto, Donsì *et al.* (2012, 2013) evaluaron el efecto de la geometría de dos válvulas de homogeneización con presiones desde 70-300 MPa, en la inactivación microbiana de nanoemulsiones, resultando más eficiente con la válvula cónica de pistón ($3-14 \mu\text{m}$) de Stansted Fluid Power, que la válvula de orificio ($130 \mu\text{m}$) de Bee International, y atribuida principalmente a una mayor cavitación e interacción mecánica directa de las células y la válvula cónica de pistón.

Por otro lado, Zamora y Guamis (2015) hicieron modificaciones al esquema del sistema de UHPH diseñado y patentado por el CERPTA modelo FPG11300 (Figura 1.2). La principal modificación fue el remplazo de la válvula convencional de la segunda etapa por una válvula Stansted. Asimismo, se incorporó un sistema de refrigeración entre las

dos válvulas con el fin de minimizar el efecto térmico del tratamiento, lo que permitió un enfriamiento instantáneo y una disminución de la temperatura de salida.

Recientemente la empresa Ypsicon (Barcelona, España) tiene la capacidad de fabricar prototipos de laboratorio (10 L/h), de planta piloto (150 L/h) e incluso equipos industriales (1000 L/h) que pueden alcanzar los 300 MPa. Algunos investigadores del CIRTTA (Centre d'Innovació, Recerca i Transferència en Tecnologia dels Aliments, UAB) son inventores de la patente internacional EP10380094.2 "Sistema continuo y procedimiento de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables mediante ultra alta presión de homogeneización", patente que se ha extendido a la Unión Europea, Estados Unidos, Turquía, México, Brasil, China, Japón, Corea del Sur, India y Australia.

1.3.3. Efectos de la UHPH sobre la carga microbiana de la leche

Middelberg (1995) realizó una revisión de los posibles procesos físicos implicados en la ruptura microbiana durante la homogeneización a alta presión. Entre los mecanismos de ruptura celular propuestos se encuentran: la repentina caída de presión, fuerzas de corte y de torsión, turbulencia y más probablemente la cavitación. En general, son varios los factores que determinan el nivel de inactivación microbiana en el producto, entre los que destacan: la temperatura de entrada del producto, la presión de homogeneización (Kheadr *et al.*, 2002; Thiebaud *et al.*, 2003; Diels *et al.*, 2005; Donsì *et al.*, 2009), la geometría de la válvula de homogeneización (Donsì *et al.*, 2013), el número de ciclos o etapas que se realicen sobre el fluido (Hayes y Kelly, 2003a; Picart *et al.*, 2006; Trujillo *et al.*, 2016), la composición de la membrana celular, la forma de los microorganismos (Vachon *et al.*, 2002; Lanciotti *et al.*, 2006; Donsì *et al.*, 2009; Patrignani y Lanciotti, 2016), los recuentos iniciales de microorganismos en el producto (Moroni *et al.*, 2002; Vachon *et al.*, 2002), la presencia de inhibidores microbianos o conservantes naturales (Vannini *et al.*, 2004), el tipo de matriz y las características fisicoquímicas del producto fresco (Kheadr *et al.*, 2002; Vachon *et al.*, 2002; Diels *et al.*, 2005; Briñez *et al.*, 2006a).

Aunque la UHPH se considere una tecnología no térmica, cuando el fluido atraviesa la válvula de homogeneización, la temperatura del fluido aumenta de ~ 2 a 2,5 °C por cada 10 MPa (Hayes y Kelly, 2003a; Thiebaud *et al.*, 2003). Este incremento de temperaturas en tiempos cortos (menos de un segundo) debería ser considerado como un factor para explicar la inactivación microbiana por tratamientos de homogeneización a alta presión (Trujillo *et al.*, 2016). Thiebaud *et al.* (2003) evaluaron la población de la flora endógena de la leche sometida a UHPH (300 MPa) y a diferentes T_i (4 y 24 °C). Los resultados

mostraron que tanto la presión de homogenización y las T_i influyen en la inhibición de la flora endógena de la leche de 1 a 3 ciclos logarítmicos, en comparación a las muestras de leche sin ningún tratamiento. Por otro lado, Pereda *et al.* (2007) reportaron reducciones en la población de coliformes, enterococos y lactobacilos de 3 y 4 ciclos logarítmicos en muestras de leche tratadas por UHPH (300 MPa) con $T_i = 30$ y 40°C , en comparación a las leches tratadas por métodos convencionales. Zamora *et al.* (2012b) observaron una reducción de ~ 3 ciclos logarítmicos en la población de bacterias totales y psicrotóxicas en muestras de leche tratada por UHPH (300 MPa, $T_i = 30^\circ\text{C}$) en comparación a las tecnologías convencionales de pasteurización y homogenización. En otros estudios, Briñez *et al.* (2006b,a, 2007) también lograron inactivar las células vegetativas de bacterias patógenas (*Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, y *Salmonella* spp.) en muestras de leche tratada por UHPH.

La aplicación del tratamiento UHPH ha demostrado tener la misma eficacia del tratamiento de pasteurización, para garantizar la estabilidad microbiológica de la leche. Sin embargo, la UHPH es menos efectiva en la inactivación de las esporas bacterianas, incluso a presiones máximas posibles, lo que limita su aplicación para obtener alimentos de calidad estéril si no es acompañada con una $T_i > 60^\circ\text{C}$ (Trujillo *et al.*, 2016).

1.3.4. Efectos de la UHPH sobre los componentes de la leche

1.3.4.1. Tamaño del glóbulo de grasa

La tecnología UHPH se ha utilizado principalmente en la leche para reducir el tamaño de los glóbulos de grasa de la leche. En leches tratadas por UHPH, y según intensidad de presión y temperatura de entrada (T_i) del producto, se han reportado reducciones del tamaño de los glóbulos de grasa de $\sim 0,1 \mu\text{m}$ (Zamora *et al.*, 2012b) y $< 0,6 \mu\text{m}$ (Pereda *et al.*, 2007). Asimismo, Picart *et al.* (2006) también observaron reducciones del tamaño de partícula (hasta $0,189 \mu\text{m}$) a medida que se incrementaba la presión de homogenización a 300 MPa. Sin embargo, el aumento de la presión de homogeneización lleva a la formación de agregados de glóbulos de grasa ($\sim 1 \mu\text{m}$) en muestras de leche tratadas por UHPH según han descritos diversos autores (Picart *et al.*, 2006; Pereda *et al.*, 2007; Trujillo *et al.*, 2016) y es atribuida principalmente a la mayor exposición superficial de los nuevos glóbulos grasos e insuficiente caseína disponible para recubrirlos. Pereda *et al.* (2007) observaron formaciones de agregados en leche tratada por UHPH (300 MPa, simple etapa) en el orden de 5 y 10% a $T_i = 40$ y 30°C , respectivamente. Contrariamente, Thiebaud *et al.* (2003) no reportaron formaciones de agregados de glóbulos de grasa en

muestras de leche tratada por UHPH a 300 MPa y $T_i = 24\text{ }^\circ\text{C}$.

1.3.4.2. Proteínas

Los fluidos alimentarios, en su paso por la válvula de homogenización, se ven sometidos a diferentes fenómenos físicos que afectan a las características de sus proteínas. En la leche tratada por UHPH, se ha descrito la ruptura y reducción del tamaño de las micelas de caseína en leche (Kheadr *et al.*, 2002) y la desnaturalización de proteínas séricas (Pereda *et al.*, 2007), afectando estas estructuras proteicas, llevando a la incorporación de las micelas de caseína y sus subunidades en la membrana del glóbulo graso si el tratamiento se aplica a leche con grasa (Metzger y Mistry, 1994). Kheadr *et al.* (2002) observaron reducciones del tamaño de las micelas de caseína pasando de 200-300 nm a 125-150 nm mediante homogeneización (200 MPa, $T_i = 28\text{ }^\circ\text{C}$). Roach y Harte (2008) también observaron reducciones en el tamaño de las micelas de caseína de 278 a 171 nm en muestras de aislados de micela de caseína tratadas a 200 MPa. Sin embargo, al incrementar las presiones de homogenización a 250 y 350 MPa se han descrito incrementos en el tamaño de las micelas de caseína a 178 y 200 nm. Durante el tratamiento de homogenización a presiones $> 200\text{ MPa}$, las micelas de caseína pueden incrementar de tamaño por agregación debido a la presencia de grandes cantidades de calcio por la solubilización del fosfato cálcico micelar (Trujillo *et al.*, 2016).

Por otro lado, a medida que se incrementan las presiones y las temperaturas de entrada y del proceso alcanzado durante el tratamiento UHPH de la leche, se produce desnaturalización de las proteínas del suero siendo la desnaturalización de la β -lactoglobulina y en mayor proporción en comparación a la α -lactoalbúmina (Hayes *et al.*, 2005; Zamora *et al.*, 2012a).

1.3.4.3. Inactivación de enzimas

En general, el tratamiento de la leche por UHPH produce inactivación de las enzimas nativas de la leche (lactoperoxidasa, lipasa, plasmina y fosfatasa alcalina) en proporciones variables según los estudios realizados, variaciones que podrían explicarse por las diferencias en las máquinas y el diseño y construcción de la válvula, así como la temperatura de entrada y tiempo en el que la leche alcanza la más alta temperatura en el equipo UHPH (Trujillo *et al.*, 2016). El tratamiento UHPH (300 MPa, $T_i = 30\text{ y }40\text{ }^\circ\text{C}$) aplicado a la leche produce una disminución de la actividad enzimática de la plasmina y plasminógeno (sistema enzimático con importancia ya que delimita la vida útil de las

leches UHT, y ejerce una importante actividad proteolítica en los quesos madurados) en comparación a las muestras de leche cruda. Aproximadamente el 70% de la actividad de la plasmina de la leche cruda es inactivada en la leche por UHPH (Pereda *et al.*, 2008). En otro estudio, Hayes y Kelly (2003b) observaron una inactivación de la plasmina (65%) a 200 MPa en comparación a las muestras tratadas de homogenización convencional. Hayes *et al.* (2005) también observaron inactivaciones del 85 y 95% de plasmina en muestras de leche homogenizadas a 150 y 250 MPa, respectivamente.

1.3.4.4. Minerales

Zamora *et al.* (2007) evaluaron el contenido de Ca, P y Mg en el suero obtenido por centrifugación de geles enzimáticos producidos a partir de leche tratada por UHPH (300 MPa). Los resultados mostraron una disminución de la cantidad de los minerales de la leche en la fase soluble al incrementar la presión de homogenización. Por otro lado, Sandra and Dalglish (2005) reportaron una mayor cantidad de Ca soluble en las leches tratadas a 200 MPa en comparación a las leches pasteurizadas. La aplicación de la homogenización de la leche produce una disrupción parcial de las micelas de caseína que pueden ocasionar una transferencia de Ca y de fosfato inorgánico a la fase soluble.

1.3.5. Principales efectos de la aplicación de la UHPH en la aptitud tecnológica de la leche para quesería

Zamora *et al.* (2007) observaron una mejora en las propiedades de coagulación enzimática de la leche tratada por UHPH (300 MPa, $T_i = 30$ y 40°C , simple etapa) y fue atribuido al efecto combinado de la presión (que produce la reducción del tamaño de partícula) y al incremento de temperatura (que produce la desnaturalización de las proteínas séricas) en la formación de nuevas estructuras lipoproteicas de la leche que aumentan el número de enlaces potenciales para crear el gel. Sin embargo, dichas propiedades fueron afectadas negativamente con la utilización de la segunda etapa (30 MPa) la cual produjo geles más débiles, similares a los obtenidos por el tratamiento de homogenización-pasteurización convencional. Lodaite *et al.* (2009) estudiaron las propiedades reológicas de geles enzimáticos obtenidos a partir de leche desnatada (0,08% de grasa) a 55°C y tratadas por UHPH (300 MPa, 2 etapas), observando que el tratamiento UHPH produjo geles más duros y formados en menor tiempo, en comparación a geles elaborados con leche sin homogeneizar. La influencia ocasionada por el tratamiento UHPH a la leche desnatada ocurre principalmente por reducción del tamaño de las

micelas de caseína.

1.3.6. Aplicaciones en la fabricación de quesos

La posibilidad de afectar la tecnología UHPH la distribución del tamaño de partícula de los glóbulos de grasa, la estructura de las proteínas y la actividad enzimática, además de reducir significativamente la carga bacteriana de la leche y su evolución durante su almacenamiento, ha estimulado a numerosos investigadores a probar esta tecnología en la elaboración de queso a partir de leche tratada por UHPH (Trujillo *et al.*, 2016).

1.3.6.1. Quesos frescos

Zamora *et al.* (2011) evaluaron las características texturales de quesos frescos producidos a partir de leches tratadas por UHPH (300 MPa, $T_i = 30\text{ }^\circ\text{C}$) en comparación a los quesos procedentes de leche tratadas convencionalmente, tales como la pasteurización ($80\text{ }^\circ\text{C}$, 15 s) y pasteurización-homogenización (15+3 MPa a $60\text{ }^\circ\text{C}$, y $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 15 s). Los resultados mostraron que tanto la homogenización convencional y la UHPH produjeron cambios en las características texturales de los quesos. Los quesos elaborados con leche homogenizada convencionalmente fueron firmes, menos deformables, pastosos, granulados, más blancos y con mayor capacidad de retención de agua, pero con una menor sensación en boca en comparación a los quesos elaborados con leche pasteurizada. Sin embargo, el efecto de la UHPH fue mayor que la homogenización convencional obteniéndose una mayor firmeza y menor deformabilidad en los quesos elaborados con leche UHPH que fue atribuido a la incorporación de proteínas séricas a la cuajada y la reducción del tamaño del glóbulo graso. Por otro lado, las diferencias en la composición (tipología del agua, contenido de proteína) y la microestructura, podrían explicar las características sensoriales de los quesos. En general, se destacaron varias mejoras en los quesos frescos elaborados a partir de leche tratada por UHPH (300 MPa, $T_i = 30\text{ }^\circ\text{C}$) en comparación a los quesos elaborados con leche tratada por tecnologías convencionales como la pasteurización y homogenización. Los quesos UHPH presentaron una mayor humedad, menor actividad lipolítica, menor sinéresis durante el almacenamiento (Zamora *et al.*, 2015), menor crecimiento de bacterias totales y psicrotrofos y con un incremento de la vida útil (13-19 días) (Zamora *et al.*, 2012b, 2015). Sin embargo, los valores de oxidación lipídica obtenidos en los quesos elaborados a partir de leche tratadas por UHPH fue mayor que en el resto de quesos, aunque sensorialmente este defecto no fue detectado (Zamora *et al.*, 2015).

Escobar *et al.* (2011) evaluaron el rendimiento, composición, textura y propiedades organolépticas de quesos frescos elaborados a partir de leches crudas y pasteurizadas (65 °C, 30 min) ambas sometidas a diferentes presiones (0-300 MPa, 2 etapas). Los resultados mostraron que la aplicación combinada de tratamientos de pasteurización y UHPH a la leche, produjo quesos frescos con mayor humedad y mayor rendimiento (1% por cada 100 MPa), debido principalmente a la mayor retención de las proteínas del suero durante la formación de las cuajadas, y al aumento de la capacidad de retención de agua de las proteínas. Las muestras de leche tratadas por pasteurización y 300 MPa produjeron quesos más desmenuzables, con mayor humedad, mayor rendimiento y una fina matriz de caseína-suero capaz de retener mejor el suero dulce. Sin embargo, se evidenció una mayor rancidez enzimática debido a la enzima lipasa activa.

1.3.6.2. Quesos madurados

Kheadr *et al.* (2002) evaluaron la calidad reológica y microestructural del queso Cheddar elaborado a partir de leches tratadas por homogenización a 200 MPa, $T_i = 28$ °C y 5 ciclos de 1 min, en comparación a quesos elaborados con leche pasteurizada. Los resultados mostraron que la leche homogenizada produjo quesos con mayor contenido de humedad, proteína y rendimiento en comparación a los quesos elaborados con leche pasteurizada. Asimismo, estos quesos presentaron una textura más firme, elástica y cohesiva debido a la formación de una matriz de caseína muy compacta y regular en la cual se detectó la presencia de glóbulos grasos de pequeño tamaño, no observándose diferencias de recuentos de bacterias totales en todas las muestras de quesos Cheddar.

Juan *et al.* (2015, 2016) evaluaron la proteólisis y lipólisis de quesos de cabra elaborados a partir de leche tratada por UHPH (200 MPa, $T_i = 30$ °C) en comparación con los elaborados a partir de leche pasteurizada-homogenizada y pasteurizada, respectivamente. Los quesos elaborados a partir de leche tratada por UHPH presentaron una mayor hidrólisis de las caseínas α_{s2} -, β - y de la para κ -caseína que los elaborados con leche pasteurizada, hecho que fue atribuido a la mayor exposición del sustrato a las enzimas proteolíticas. El tratamiento UHPH de la leche incrementó significativamente los niveles de nitrógeno soluble del queso y péptidos hidrofóbicos e hidrofílicos. Por otro lado, no observaron variaciones en la lipólisis de las muestras de quesos UHPH y los elaborados por pasteurización; sin embargo, la homogenización convencional produjo una extensa lipólisis de los quesos debido a la reducción del tamaño del glóbulo de grasa, incrementando el área para la actividad de la lipasa. Las diferencias en el nivel de lipólisis

de los quesos elaborados por UHPH y homogenización convencional podría estar relacionado con la intensidad de los tratamientos y por los diferentes cambios producidos por estas tecnologías en la MFGM, modificando la accesibilidad de la enzima a la grasa. La combinación de tratamientos convencionales y la UHPH también puede ser utilizados para reducir la carga microbiana de la leche y durante la maduración de los quesos. López-Pedemonte *et al.* (2006) evaluaron la calidad microbiológica de quesos blandos elaborados a partir de leches inoculadas con *Staphylococcus aureus* y sometidas a una combinación de tratamientos de pasteurización, alta presión hidrostática (HHP) y UHPH. Con el tratamiento UHPH (330 + 30 MPa, $T_i = 6\text{ }^\circ\text{C}$) lograron reducir la población de *St. aureus* de 8,5 log cfu/g a 5, ~ 2,8 y ~ 1 log ufc/g para los días 1, 15 y 30 de maduración, respectivamente. Asimismo, incrementando la T_i a $20\text{ }^\circ\text{C}$ del tratamiento UHPH, lograron inactivar completamente el *St. aureus* a los 15 días de maduración. El tratamiento adicional de HHP (400 MPa) a la UHPH tuvo un efecto sinérgico.

1.4. Referencias

- Aryana, K.J. & Haque, Z.U. (2001). Effect of commercial fat replacers on the microstructure of low-fat Cheddar cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, **36**, 169-177.
- Banks, J. (2007). Producing low fat cheese. En: *Improving the Flavour of Cheese. Series in Food Science, Technology and Nutrition* (editado por B.C. Weimer). Pp. 520-536. England: Woodhead Publishing.
- Banks, J.M. (2004). The technology of low-fat cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, **57**, 199-207.
- BOE. (2006). Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos. BOE-A-2006-17436. *Boletín Oficial del Estado (BOE)*, 34717-34720.
- Briñez, W.J., Roig-Sagués, A.X., Hernández-Herrero, M.M. & Guamis-López, B. (2007). Inactivation of *Staphylococcus* spp. strains in whole milk and orange juice using ultra high pressure homogenisation at inlet temperatures of 6 and $20\text{ }^\circ\text{C}$. *Food Control*, **18**, 1282-1288.
- Briñez, W.J., Roig-Sagués, A.X., Hernández-Herrero, M.M. & Guamis-López, B. (2006a). Inactivation of two strains of *Escherichia coli* inoculated into whole and skim milk by ultrahigh-pressure homogenisation. *Le Lait*, **86**, 241-249.

- Briñez, W.J., Roig-Sagués, A.X., Hernández-Herrero, M.M. & Guamis-López, B. (2006b). Inactivation of *Listeria innocua* in milk and orange juice by ultrahigh-pressure homogenization. *Journal of Food Protection*, **69**, 86-92.
- Bryant, A., Ustunol, Z. & Steffe, J. (1995). Texture of Cheddar Cheese as Influenced by Fat Reduction. *Journal of Food Science*, **60**, 1216-1219.
- Bylund, G. (1995). *Dairy Processing Handbook. Tetra Pak Processing Systems AB*. Tetra Pak. S-221 86 Lund, Sweden.
- Cerbulis, J., Parks, O.W. & Jr, H.M.F. (1982). Composition and Distribution of Lipids of Goats' Milk. *Journal of Dairy Science*, **65**, 2301-2307.
- Childs, J.L. & Drake, M. (2009). Consumer perception of fat reduction in cheese. *Journal of Sensory Studies*, **24**, 902-921.
- Christie, W.W. (1983). The Composition and Structure of Milk Lipids. En: *Developments in Dairy Chemistry-2: Lipids* (editado por P.F. Fox). Pp. 1-35. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Coutouly, A., Riaublanc, A., Axelos, M. & Gaucher, I. (2014). Effect of heat treatment, final pH of acidification, and homogenization pressure on the texture properties of cream cheese. *Dairy Science and Technology*, **94**, 125-144.
- Damodaran, S., Parkin, K.L. & Fennema, O.R. (2008). *Fennema's Food Chemistry*. 4th edn. Boca Raton: CRC Press.
- Desrumaux, A. & Marcand, J. (2002). Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): Effect of pressure on emulsion characteristics. *International Journal of Food Science and Technology*, **37**, 263-269.
- Di-Cagno, R., De-Pasquale, I., De-Angelis, M., Buchin, S., Rizzello, C.G. & Gobbetti, M. (2014). Use of microparticulated whey protein concentrate, exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus*, and adjunct cultures for making low-fat Italian Caciotta-type cheese. *Journal of Dairy Science*, **97**, 72-84.
- Diels, A.M.J., Callewaert, L., Wuytack, E.Y., Masschalck, B. & Michiels, C.W. (2005). Inactivation of *Escherichia coli* by high-pressure homogenisation is influenced by fluid viscosity but not by water activity and product composition. *International Journal of Food Microbiology*, **101**, 281-291.
- Diels, A.M.J. & Michiels, C.W. (2006). High-Pressure Homogenization as a Non-Thermal Technique for the Inactivation of Microorganisms. *Critical Reviews in Microbiology*, **32**, 201-216.

- Donsì, F., Annunziata, M. & Ferrari, G. (2013). Microbial inactivation by high pressure homogenization: Effect of the disruption valve geometry. *Journal of Food Engineering*, **115**, 362-370.
- Donsì, F., Ferrari, G. & Maresca, P. (2009). High-Pressure Homogenization for Food Sanitization. En: *Global Issues in Food Science and Technology* (editado por G. Barbosa-Cánovas, A. Mortimer, D. Lineback, W. Spiess, K. Buckle & P. Colonna). Pp. 309-352. USA: Academic Press.
- Donsì, F., Sessa, M. & Ferrari, G. (2012). Effect of Emulsifier Type and Disruption Chamber Geometry on the Fabrication of Food Nanoemulsions by High Pressure Homogenization. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **51**, 7606-7618.
- Drake, M.A., Boylston, T.D. & Swanson, B.G. (1996). Fat Mimetics in Low-Fat Cheddar Cheese. *Journal of Food Science*, **61**, 1267-1271.
- Drake, M.A. & Swanson, B.G. (1995). Reduced- and low-fat cheese technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*, **6**, 366-369.
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A. & Blayo, C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science and Technology*, **31**, 13-26.
- Ebringer, L., Ferencík, M. & Krajčovič, J. (2008). Beneficial Health Effects of Milk and Fermented Dairy Products – Review. *Folia Microbiol*, **53**, 378-394.
- Eck, A. (1990). *El Queso*. Barcelona. España: Ediciones Omega, S.A.
- Evert, K. (2013). *Effect of high pressure processing (HPP) on starter-free fresh cheese shelf-life*. Barcelona, España: Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- FAO/WHO. (2011). *Group standard for unripened cheese including fresh cheese. CODEX STAN 221-2001. Milk and Milk Products*. 2nd. Ed. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO) 2011.
- Farkye, N.Y. (2004a). Acid- and acid/rennet-curd cheeses part C: Acid-heat coagulated cheeses. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan & T.P. Guinee). Pp. 343-348. San Diego, CA, USA: Elsevier Academic Press.
- Farkye, N.Y. (2004b). Cheese technology. En: *International Journal of Dairy Technology*. Pp. 91-98.
- Farkye, N.Y. & Guinee, T.P. (2017). Low-Fat and Low-Sodium Cheeses. En: *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.L.H. McSweeney, P.F. Fox,

- P.D. Cotter & D.W. Everett). Pp. 699-714. San Diego: Academic Press.
- FDA. (1993). Food labeling: nutrient content claims, general principles, petitions, definition of terms; definitions of nutrient content claims for the fat, fatty acid, and cholesterol of food. Food and Drug Administration (FDA). 21 CFR Parts 5 and 101. *Federal Register*, **58**, 2302-2426.
- Fenelon, M.A. & Guinee, T.P. (1997). The compositional, textural and maturation characteristics of reduced-fat Cheddar made from milk containing added Dairy LoTM. *Milchwissenschaft*, 385–389.
- Fenelon, M.A. & Guinee, T.P. (1999). The Effect of Milk Fat on Cheddar Cheese Yield and Its Prediction, Using Modifications of the Van Slyke Cheese Yield Formula. *Journal of Dairy Science*, **82**, 2287-2299.
- Fenelon, M.A. & Guinee, T.P. (2000). Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal*, **10**, 151-158.
- Ferrão, L.L., Silva, E.B., Silva, H.L.A., Silva, R., Mollakhalili, N., Granato, D., Freitas, M.Q., Silva, M.C., Raices, R.S.L., Padilha, M.C., Zacarchenco, P.B., Barbosa, M.I.M.J., Mortazavian, A.M. & Cruz, A.G. (2016). Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. *Food Research International*, **86**, 93-102.
- Floury, J., Desrumaux, A. & Lardières, J. (2000). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **1**, 127-134.
- Fox, P.F. & Guinee, T.P. (2013). Cheese Science and Technology. En: *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health* (editado por Y.W. Park & G.F.W. Haenlein). Pp. 357-389. USA: John Wiley & Sons.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L. & Lynch, C.. (1998). Significance of non-starter lactic acid bacteria in cheddar cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*, **53**, 83-89.
- Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (2017). Cheese: An Overview. En: *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.L.H. McSweeney, P.F. Fox, P.D. Cotter & D.W. Everett). Pp. 5-21. San Diego: Academic Press.
- Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H. & O'Mahony, J.A. (2015a). Water in Milk and Dairy Products. En: *Dairy Chemistry and Biochemistry* (editado por P.F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P.L.H. McSweeney & J.A. O'Mahony). Pp. 299-320. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London: Springer International

Publishing.

- Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H. & O'Mahony, J.A. (2015b). Milk Lipids. En: *Dairy Chemistry and Biochemistry* (editado por P.F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P.L.H. McSweeney & J.A. O'Mahony). Pp. 69-144. London, UK: Springer International Publishing.
- Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H. & O'Mahony, J.A. (2015c). Vitamins in Milk and Dairy Products. En: *Dairy Chemistry and Biochemistry* (editado por P.F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P.L.H. McSweeney & J.A. O'Mahony). Pp. 271-297. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London: Springer International Publishing.
- Goudédranche, H., Fauquant, J. & Maubois, J.-L. (2000). Fractionation of globular milk fat by membrane microfiltration. *Le Lait*, **80**, 93-98.
- Guéguen, L. & Pointillart, A. (2000). The Bioavailability of Dietary Calcium. *Journal of the American College of Nutrition*, **19**, 119S-136S.
- Guinee, T.P., Fenelon, M.A., Mulholland, E. O, O'Kennedy, B.T., O'Brien, N. & Reville, W.J. (1998). The influence of milk pasteurization temperature and pH at curd milling on the composition, texture and maturation of reduced fat cheddar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, **51**, 1-10.
- Guinee, T.P. & Fox, P.F. (2004). Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan & T.P. Guinee). Pp. 207-259. London, UK: Elsevier Academic Press.
- Guinee, T.P. & McSweeney, P.L.H. (2006). Significance of Milk Fat in Cheese. En: *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 377-440. Boston, MA: Springer US.
- Guinee, T.P. & O'Brien, B. (2010). The Quality of Milk for Cheese Manufacture. En: *Technology of Cheesemaking* (editado por B.A. Law & A.Y. Tamime). Pp. 1-67. USA: Wiley-Blackwell.
- Hayes, M.G., Fox, P.F. & Kelly, A.L. (2005). Potential applications of high pressure homogenisation in processing of liquid milk. *Journal of Dairy Research*, **72**, 25-33.
- Hayes, M.G. & Kelly, A.L. (2003a). High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. *The Journal of Dairy Research*, **70**, 297-305.
- Hayes, M.G. & Kelly, A.L. (2003b). High pressure homogenisation of milk (b) effects on

- indigenous enzymatic activity. *The Journal of Dairy Research*, **70**, 307-313.
- Hernando, I., Pérez-Munuera, I. & Lluch, M.A. (2000). Caracterización microestructural del queso de Burgos mediante diferentes técnicas microscópicas. *Food Science and Technology International*, **6**, 151-157.
- Higurashi, S., Kunieda, Y., Matsuyama, H. & Aizawa, H.K. (2007). Effect of cheese consumption on the accumulation of abdominal adipose and decrease in serum adiponectin levels in rats fed a calorie dense diet. *International Dairy Journal*, **17**, 1224-1231.
- Hill, A.R. (1995). Chemical Species in Cheese and Their Origin in Milk Components. En: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese* (editado por E.L. Malin & M.H. Tunick). Pp. 43-58. Boston, MA: Springer US.
- Hill, A.R. (2007). Physical factors affecting flavour of cheese. En: *Improving the Flavour of Cheese* (editado por B.C. Weimer). Pp. 252-283. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- Hnosko, J., Clark, S. & Hekken, D. Van. (2009). Latin American Cheeses. En: *The Sensory Evaluation of Dairy Products* (editado por S. Clark, M. Costello, M. Drake & F. Bodyfelt). Pp. 489-504. New York, NY: Springer US.
- Holsinger, V.H. (1995). Nutritional Aspects of Reduced-Fat Cheese. En: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese* (editado por E.L. Malin & M.H. Tunick). Pp. 339-344. Boston, MA: Springer US.
- Holsinger, V.H., Smith, P.W. & Tunick, M.H. (1995). Overview: Cheese Chemistry and Rheology. En: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese* (editado por E.L. Malin & M.H. Tunick). Pp. 1-6. Boston, MA: Springer US.
- Høstmark, A.T., Haug, A., Tomten, S.E., Thelle, D.S. & Mosdøl, A. (2009). Serum hdl cholesterol was positively associated with cheese intake in the oslo health study. *Journal of Food Lipids*, **16**, 89-102.
- IDF/FIL. (2017). *The World Dairy Situation 2017. Bulletin of the International Dairy Federation 489/2017*. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Jana, A.H. & Upadhyay, K.G. (1992). Effects of homogenization conditions on the quality and yield of buffalo milk mozzarella cheese. *Indian Journal Of Animal Sciences*, **62**, 681-685.
- Jaros, D., Ginzinger, W., Tschager, E., Mayer, H.K. & Rohm, H. (1997). Effects of water addition on composition and fracture properties of Emmental cheese. *Le Lait*, **77**, 467-477.

- Jensen, R.G. (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, **85**, 295-350.
- Johnson, M.E. (2001). Cheese Products. En: *Applied Dairy Microbiology* (editado por E.H. Marth & J. Steele). Pp. 345-384. New York: Marcel Dekker.
- Johnson, M.E. & Chen, C.M. (1995). Technology of Manufacturing Reduced-Fat Cheddar Cheese. En: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese. Advances in Experimental Medicine and Biology* (editado por E.L. Malin & M.H. Tunick). Pp. 331-337. Boston, MA: Springer US.
- Juan, B., Quevedo, J.M., Zamora, A., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2015). Lipolysis of cheeses made from goat milk treated by ultra-high pressure homogenization. *LWT - Food Science and Technology*, **60**, 1034-1038.
- Juan, B., Zamora, A., Quevedo, J.M. & Trujillo, A.-J. (2016). Proteolysis of cheese made from goat milk treated by ultra high pressure homogenisation. *LWT - Food Science and Technology*, **69**, 17-23.
- Karaman, A.D. & Akalin, A.S. (2013). Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream. *LWT - Food Science and Technology*, **50**, 503-510.
- Karaman, A.D., Benli, M. & Akalin, A.S. (2012). Microstructure of industrially produced reduced and low fat Turkish white cheese as influenced by the homogenization of cream. *Grasas y Aceites*, **63**, 267-273.
- Katsiari, M.C. & Voutsinas, L.P. (1994). Manufacture of low-fat Feta cheese. *Food Chemistry*, **49**, 53-60.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P. & Kondyli, E. (2002). Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures. *International Dairy Journal*, **12**, 757-764.
- Keenan, T.W. & Mather, I.H. (2006). Intracellular Origin of Milk Fat Globules and the Nature of the Milk Fat Globule Membrane. En: *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 137-171. Boston, MA: Springer US.
- Keenan, T.W., Mather, I.H. & Dylewski, D.P. (1988). Physical Equilibria: Lipid Phase. En: *Fundamentals of Dairy Chemistry* (editado por N.P. Wong, R. Jenness, M. Keeney & E.H. Marth). Pp. 511-582. Boston, MA: Springer US.
- Keenan, T.W., Moon, T.-W. & Dylewski, D.P. (1983). Lipid Globules Retain Globule Membrane Material After Homogenization. *Journal of Dairy Science*, **66**, 196-203.

- Kheadr, E.E., Vachon, J.F., Paquin, P. & Fliss, I. (2002). Effect of dynamic high pressure on microbiological, rheological and microstructural quality of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, **12**, 435-446.
- Kleinig, A.R. & Middelberg, A.P.J. (1998). On the mechanism of microbial cell disruption in high pressure homogenisation. *Chemical Engineering Science*, **53**, 891-898.
- Koca, N. & Metin, M. (2004). Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal*, **14**, 365-373.
- Komorowski, E.S. (2011). Saturated fat reduction in milk and dairy products. En: *Reducing Saturated Fats in Foods. Series in Food Science, Technology and Nutrition* (editado por G. Talbot). Pp. 179-194. PA 19102-3406, USA: Woodhead Publishing.
- Lanciotti, R., Vannini, L., Patrignani, F., Iucci, L., Vallicelli, M., Ndagijimana, M. & Guerzoni, M.E. (2006). Effect of high pressure homogenisation of milk on cheese yield and microbiology, lipolysis and proteolysis during ripening of Caciotta cheese. *The Journal of Dairy Research*, **73**, 216-226.
- Lo, C.G. & Bastian, E.D. (1998). Incorporation of Native and Denatured Whey Proteins into Cheese Curd for Manufacture of Reduced Fat, Havarti-type Cheese. *Journal of Dairy Science*, **81**, 16-24.
- Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E.J. & Sanchez-Garcia, J. (2000). Viscoelastic properties of white fresh cheese filled with sodium caseinate. *Journal of Texture Studies*, **31**, 379-390.
- Lodaite, K., Chevalier, F., Armaforte, E. & Kelly, A.L. (2009). Effect of high-pressure homogenisation on rheological properties of rennet-induced skim milk and standardised milk gels. *The Journal of Dairy Research*, **76**, 294-300.
- López-Pedemonte, T., Brinez, W.J., Roig-Sagués, a X. & Guamis, B. (2006). Fate of *Staphylococcus aureus* in cheese treated by ultrahigh pressure homogenization and high hydrostatic pressure. *Journal of Dairy Science*, **89**, 4536-44.
- Lucey, J.A. (2011). Cheese: Rennet-Induced Coagulation of Milk. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 579-584. Academic Press.
- Lucey, J.A. & Fox, P.F. (1993). Importance of Calcium and Phosphate in Cheese Manufacture - A Review. *Journal of Dairy Science*, **76**, 1714-1724.

- Lucey, J.A. & Gorry, C. (1993). Effect of Simplese® 100 on the manufacture of low fat Cheddar cheese. En: *Cheese Yield and Factors Affecting its Control, Proceedings of the IDF Seminar, Cork, Ireland*. Pp. 439-447. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- MacGibbon, A.K. & Taylor, M.W.H. (2006). Composition and structure of bovine milk lipids. En: *Advanced Dairy Chemistry. Lipids* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 1-42. USA: Springer US.
- Madadlou, A., Mousavi, M.E., Khosrowshahi asl, A., Emam-Djome, Z. & Zargaran, M. (2007). Effect of cream homogenization on textural characteristics of low-fat Iranian White cheese. *International Dairy Journal*, **17**, 547-554.
- MAPAMA. (2018). Informe del consumo de alimentación en España 2017. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente de España (MAPAMA) [Internet document] URL http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeanualdeconsumoalimentario2017_tcm30-456186.pdf. Accessed 17/07/2018.
- Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknytè, M. & Noni, I. De. (2017). Technological tools to include whey proteins in cheese: Current status and perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, **64**, 102-114.
- Matkovic, V., Goel, P.K., Badenhop-Stevens, N.E., Landoll, J.D., Li, B., Ilich, J.Z., Skugor, M., Nagode, L.A., Mobley, S.L., Ha, E.J., Hangartner, T.N. & Clairmont, A. (2005). Calcium supplementation and bone mineral density in females from childhood to young adulthood: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, **81**, 175-188.
- McCarthy, A.L., O'Connor, T.P. & O'Brien, N.M. (2013). Cheese in the context of diet and nutrition. En: *Handbook of cheese in health*, Human Health Handbooks (editado por V.R. Preedy, R.R. Watson & V.B. Patel). Pp. 13-26. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
- McMahon, D.J., Alleyne, M.C., Fife, R.L. & Oberg, C.J. (1996). Use of Fat Replacers in Low Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **79**, 1911-1921.
- Mcsweeney, P.L.H. (1997). The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: taste. *International Journal of Dairy Technology*, **50**, 123-128.
- McSweeney, P.L.H. (2004). Biochemistry of Cheese Ripening. *International Journal of Dairy Technology*, **57**, 127-144.

- McSweeney, P.L.H. (2007). Cheese manufacture and ripening and their influence on cheese flavour. En: *Improving the Flavour of Cheese. Series in Food Science, Technology and Nutrition* (editado por B.C. Weimer). Pp. 1-25. Utah State University, USA: Woodhead Publishing.
- Medina, M., Gaya, P., Guillén, A.M. & Nuñez, M. (1992). Characteristics of Burgos and Hispánico cheeses manufactured with calf rennet or with recombinant chymosin. *Food Chemistry*, **45**, 85-89.
- Meisel, H. (1998). Overview on milk protein-derived peptides. *International Dairy Journal*, **8**, 363-373.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1994). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 1. Manufacture, Composition, and Yield. *Journal of Dairy Science*, **77**, 3506-3515.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1995). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 2. Microstructure, Fat Globule Distribution, and Free Oil. *Journal of Dairy Science*, **78**, 1883-1895.
- Michalski, M.C. & Januel, C. (2006). Does homogenization affect the human health properties of cow's milk? *Trends in Food Science and Technology*, **17**, 423-437.
- Middelberg, A.P.J. (1995). Process-scale disruption of microorganisms. *Biotechnology Advances*, **13**, 491-551.
- Miller, J., Rogowski, M. & Kelly, W. (2002). Using a CFD Model To Understand the Fluid Dynamics Promoting E. coli Breakage in a High-Pressure Homogenizer. *Biotechnology Progress*, **18**, 1060-1067.
- Mistry, V. V. (2001). Low fat cheese technology. En: *International Dairy Journal*. Pp. 413-422.
- Mistry, V. V., Metzger, L.E. & Maubois, J.L. (1996). Use of ultrafiltered sweet buttermilk in the manufacture of reduced fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, **79**, 1137-1145.
- Mohamed, A.G. (2015). Low-fat cheese: A modern demand. *International Journal of Dairy Science*, **10**, 249-265.
- Moroni, O., Jean, J., Autret, J. & Fliss, I. (2002). Inactivation of lactococcal bacteriophages in liquid media using dynamic high pressure. *International Dairy Journal*, **12**, 907-913.
- Mulero, J., Zafrilla, P., Martínez-Cachá, A., Leal, M. & Abellán, J. (2011). Péptidos bioactivos. *Clinica e Investigacion en Arteriosclerosis*, **23**, 219-227.

- Nair, M.G., Mistry, V. V. & Oommen, B.S. (2000). Yield and functionality of Cheddar cheese as influenced by homogenization of cream. *International Dairy Journal*, **10**, 647-657.
- Nateghi, L., Roohinejad, S., Totosaus, A., Rahmani, A., Tajabadi, N., Meimandipour, A., Rasti, B. & Manap, M.Y.A. (2012). Physicochemical and textural properties of reduced fat Cheddar cheese formulated with xanthan gum and/or sodium caseinate as fat replacers. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, **10**, 59-63.
- O'Brien, N.M. & O'Connor, T.P. (2004). Nutritional Aspects of Cheese. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan & T.P. Guinee). Pp. 573-581. London, UK: Elsevier Academic Press.
- O'Callaghan, Y.C., O'Connor, T.P. & O'Brien, N.M. (2017). Nutritional Aspects of Cheese. En: *Fundamentals of Cheese Science* (editado por P.F. Fox, T.P. Guinee, T.M. Cogan & P.L.H. McSweeney). Pp. 715-730. Boston, MA: Springer US.
- O'Connor, T.P. & O'Brien, N.M. (2011). Butter and other milk fat products. Fat replacers. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (editado por J.W. Fuquay, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 528-532. Oxford, UK: Elsevier.
- OECD/FAO. (2015). Dairy. En: *OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations. OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2024*. Pp. 126-145. Paris: OECD Publishing.
- Pandolfe, W.D. (1999). Homogenisers. En: *Encyclopedia of food science and technology* (editado por F.J. Francis). Pp. 1289-1294. New York, NY, USA: Wiley.
- Paquin, P. (1999). Technological properties of high pressure homogenizers: The effect of fat globules, milk proteins, and polysaccharides. *International Dairy Journal*, **9**, 329-335.
- Parodi, P.W. (2004). Milk Fat in Human Nutrition. *Australia Journal of Dairy Technology*, **59**, 3-59.
- Parodi, P.W. (2009). Milk Fat Nutrition. En: *Dairy Fats and Related Products* (editado por A.Y. Tamime). Pp. 28-51. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.
- Patrignani, F. & Lanciotti, R. (2016). Applications of high and ultra high pressure homogenization for food safety. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 1-13.
- Pereda, J., Ferragut, V., Buffa, M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2008). Proteolysis of ultra-high pressure homogenised treated milk during refrigerated storage. *Food Chemistry*, **111**, 696-702.
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2007). Effects of

- ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. *Journal of Dairy Science*, **90**, 1081-93.
- Picart, L., Thiebaud, M., René, M., Pierre Guiraud, J., Cheftel, J.C. & Dumay, E. (2006). Effects of high pressure homogenisation of raw bovine milk on alkaline phosphatase and microbial inactivation. A comparison with continuous short-time thermal treatments. *The Journal of Dairy Research*, **73**, 454-63.
- Pintado, M., Gomez da Cruz, A. & Zacarchenco, P. (2015). Cheese Microbiology. En: *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments* (editado por B. Ozer & G. Akdemir-Evrendilek). Pp. 113-133. Boca Raton, London, New York: CRC Press.
- Poduval, V.S. & Mistry, V. V. (1999). Manufacture of Reduced Fat Mozzarella Cheese Using Ultrafiltered Sweet Buttermilk and Homogenized Cream. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1-9.
- Portnoil, P. & MacDonald, A. (2013). Lactose and galactose content of cheese. En: *Handbook of cheese in health*, Human Health Handbooks (editado por V.R. Preedy, R.W. Ronald & V.B. Patel). Pp. 495-514. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
- Prieto, B., Franco, I., Urdiales, R., Fresno, J.M. & Carballo, J. (1998). Los quesos tradicionales de Castilla y León: Estado actual de su conocimiento científico. *Alimentaria*, 55-64.
- Raval, D.M. & Mistry, V.V. (1999). Application of Ultrafiltered Sweet Buttermilk in the Manufacture of Reduced Fat Process Cheese. *Journal of Dairy Science*, **82**, 2334-2343.
- Reglamento CE 1924. (2006). Comunidad Europea (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo del 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y propiedades saludables en los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 9-25.
- Renner, E. (1993). Nutritional Aspects of Cheese. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Volume 1 General Aspects* (editado por P.F. Fox). Pp. 557-579. Boston, MA: Springer US.
- Ritvanen, T., Lilleberg, L., Tupasela, T., Suhonen, U., Eerola, S., Putkonen, T. & Peltonen, K. (2010). The characterization of the most-liked reduced-fat Havarti-type cheeses. *Journal of Dairy Science*, **93**, 5039-5047.
- Roach, A. & Harte, F. (2008). Disruption and sedimentation of casein micelles and casein micelle isolates under high-pressure homogenization. *Innovative Food Science and*

- Emerging Technologies*, **9**, 1-8.
- Rodríguez, J. (1998). Recent advances in the development of low-fat cheeses. *Trends in Food Science and Technology*, **9**, 249-254.
- Rodríguez, J., Requena, T., Fontecha, J., Goudédranche, H. & Juárez, M. (1999). Effect of different membrane separation technologies (ultrafiltration and micro filtration) on the texture and microstructure of semihard low-fat cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 558-565.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Guo, M.R. & Kindstedt, P.S. (1998). Effect of the Modification of Fat Particle Size by Homogenization on Composition, Proteolysis, Functionality, and Appearance of Reduced Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **81**, 2065-2076.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Yun, J.J. & Kindstedt, P.S. (1999). Effect of Fat Reduction on Chemical Composition, Proteolysis, Functionality, and Yield of Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **82**, 661-672.
- Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y. & Itoh, T. (2000). Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, **83**, 1434-1440.
- Sandra, S. & Dalgleish, D.G. (2005). Effects of ultra-high-pressure homogenization and heating on structural properties of casein micelles in reconstituted skim milk powder. *International Dairy Journal*, **15**, 1095-1104.
- Schreiber, R., Neuhauser, S., Schindler, S. & Kessler, H.G. (1998). Incorporation of whey protein aggregates in semi-hard cheese. Part 1: Optimizing processing parameters. *Deutsche Milchwirtschaft*, **49**, 958-962.
- Scott, R., Robinson, R.K., Wilbey, R.A. & Barrado, A.M. (2002). *Fabricación de queso*. Ciencia y tecnología lactológica. Segunda ed. España: Acribia.
- Simatos, D., Champion, D., Lorient, D., Loupiac, C. & Roudaut, G. (2009). Water in Dairy Products. En: *Advanced Dairy Chemistry: Volume 3: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents* (editado por P. McSweeney & P.F. Fox). Pp. 457-526. New York, NY: Springer New York.
- Singh, H. (2006). The milk fat globule membrane — A biophysical system for food applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, **11**, 154-163.
- Soda, M. El, Madkor, S.A. & Tong, P.S. (2000). Adjunct cultures: recent developments and potential significance to the cheese industry. *Journal of Dairy Science*, **83**, 609-619.

- St-Gelais, D., Roy, D. & Audet, P. (1998). Manufacture and composition of low fat Cheddar cheese from milk enriched with different protein concentrate powders. *Food Research International*, **31**, 137-145.
- Stankey, J.A., Lu, Y., Abdalla, A., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J.J., ? Mikkelsen, B., Pedersen, K.T. & Andersen, C.B. (2017). Low-fat Cheddar cheese made using microparticulated whey proteins: Effect on yield and cheese quality. *International Journal of Dairy Technology*, **70**, 1-11.
- Sundar, R. & Upadhyay, K.G. (1990). Effects of standardization of buffalo milk for casein/fat ratio on Mozzarella cheese composition and cheese making efficiency. *Indian Journal of Dairy Science*, **43**, 588-597.
- Tarakci, Z. & Tuncturk, Y. (2008). The effect of adjunct cultures on some chemical and biochemical properties of white-brined cheese. *Journal of Food Biochemistry*, **32**, 490-505.
- Tesch, S., Freudig, B. & Schubert, H. (2003). Production of emulsions in high-pressure homogenizers - Part I: Disruption and stabilization of droplets. *Chemical Engineering and Technology*, **26**, 569-573.
- Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L., Guiraud, J.P. & Cheftel, J.C. (2003). High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. *International Dairy Journal*, **13**, 427-439.
- Trujillo, A.-J., Roig-Sagués, A.-X., Zamora, A. & Ferragut, V. (2016). High-Pressure Homogenization for Structure Modification. En: *Innovative Food Processing Technologies* (editado por K. Knoerzer, P. Juliano & G. Smithers). Pp. 315-344. UK: Woodhead Publishing.
- Tungjaroenchai, W., Drake, M.A. & White, C.H. (2001). Influence of adjunct cultures on ripening of reduced fat Edam cheeses. *Journal of dairy science*, **84**, 2117-24.
- Tunick, M.H., Mackey, K.L., Shieh, J.J., Smith, P.W., Cooke, P. & Malin, E.L. (1993). Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal*, **3**, 649-662.
- Tunick, M.H., Mackey, K.L., Smith, P.W. & Holsinger, V.H. (1991). Effects of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal*.
- Ustunol, Z., Kawachi, K. & Steffe, J. (1995). Rheological properties of Cheddar cheese as influenced by fat reduction and ripening time. *Journal of Food Science*, **60**, 1208-1210.

- Vachon, J.F., Kheadr, E.E., Giasson, J., Paquin, P. & Fliss, I. (2002). Inactivation of Foodborne Pathogens in Milk Using Dynamic High Pressure. *Journal food protection*, **65**, 345-352.
- Vanderghem, C., Bodson, P., Danthine, S., Paquot, M., Deroanne, C. & Blecker, C. (2010). Milk fat globule membrane and buttermilks: From composition to valorization. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, **14**, 485-500.
- Vannini, L., Lanciotti, R., Baldi, D. & Guerzoni, M.E. (2004). Interactions between high pressure homogenization and antimicrobial activity of lysozyme and lactoperoxidase. *International Journal of Food Microbiology*, **94**, 123-135.
- Varnam, A.H. & Sutherland, J.P. (1994). *Milk and Milk Products. Technology, chemistry and microbiology*. 1.^a edn. London, UK: Chapman y Hall.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. & Geurts, T.J. (2006). *Dairy Science and Technology*. 2nd edn. Boca Raton: CRC Press LLC. Taylor & Francis Group.
- Walther, B., Schmid, A., Sieber, R. & Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, **88**, 389-405.
- Zamora, A., Ferragut, V., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012a). Changes in the surface protein of the fat globules during ultra-high pressure homogenisation and conventional treatments of milk. *Food Hydrocolloids*, **29**, 135-143.
- Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P.D., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2007). Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on the Cheese-Making Properties of Milk. *Journal of Dairy Science*, **90**, 13-23.
- Zamora, A., Ferragut, V., Juan, B., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2011). Effect of ultra-high pressure homogenisation of milk on the texture and water-typology of a starter-free fresh cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **12**, 484-490.
- Zamora, A., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012b). Ultra-high pressure homogenisation of milk: technological aspects of cheese-making and microbial shelf life of a starter-free fresh cheese. *Journal of Dairy Research*, **79**, 168-175.
- Zamora, A. & Guamis, B. (2015). Opportunities for Ultra-High-Pressure Homogenisation (UHPH) for the Food Industry. *Food Engineering Reviews*, **7**, 130-142.
- Zamora, A., Juan, B. & Trujillo, A.J. (2015). Compositional and biochemical changes during cold storage of starter-free fresh cheeses made from ultra-high-pressure homogenised milk. *Food Chemistry*, **176**, 433-440.

Capítulo 2

Capítulo 2. INTERÉS DEL ESTUDIO, ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1 Interés del estudio

A principios del siglo XX, las autoridades sanitarias alentaron del consumo de leche y productos lácteos para mejorar el estado nutricional de la población, especialmente los niños. Sin embargo, la imagen de la leche y los productos lácteos se han deteriorado durante las últimas décadas, principalmente debido al contenido de ácidos grasos saturados (Parodi, 2009). El consumo de grasas por las poblaciones occidentales se ha demostrado que se asocia con un mayor riesgo de obesidad, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, presión arterial elevada, y enfermedades de lesión de los tejidos asociados con la oxidación de lípidos. Esta asociación ha creado una mayor conciencia y un aumento de la demanda y oferta de alimentos bajos en grasa, incluyendo las variedades de queso (Katsiari *et al.*, 2002).

Actualmente los mercados de consumo requieren quesos bajos en grasa que presenten las mismas características de los quesos convencionales (Kavas *et al.*, 2004). Sin embargo, los quesos bajos en grasa suelen presentar características sensoriales diferentes a los quesos elaborados con leche entera, siendo habitual un menor sabor, aroma y defectos de textura (Sipahioglu *et al.*, 1999). Estos efectos indeseables encontrados en los quesos bajos o reducidos en grasa pueden ser corregidos mediante tres estrategias principales como se ha comentado en la revisión bibliográfica: el uso de cultivos adjuntos, el uso de sustitutos de grasa y la modificación de las tecnologías de fabricación de queso (Drake y Swanson, 1995; Romeih *et al.*, 2002).

La homogenización de la nata es una tecnología de fabricación utilizada como una herramienta de proceso para la mejora de quesos reducidos y bajos en grasa (Metzger y Mistry, 1994, 1995; Rudan *et al.*, 1998; Poduval y Mistry, 1999; Madadlou *et al.*, 2007; Karaman y Akalin, 2013), aunque se han evidenciado ciertas deficiencias de este tratamiento, tales como, las pérdidas de proteína (Karaman *et al.*, 2012).

La homogeneización a ultra alta presión (UHPH) es un tratamiento no térmico basado en los mismos principios de la homogeneización convencional, cuyos principales efectos son: la reducción del tamaño de partícula, la estabilización de emulsiones, la inactivación de microorganismos y de enzimas a niveles similares o superiores a los producidos por la pasteurización con una reducción concomitante de la carga microbiana (Dumay *et al.*,

2013; Zamora y Guamis, 2015). Así el tratamiento de UHPH podría ser un tratamiento alternativo a evaluar para la producción de queso con reducido contenido en grasa que es el objeto de la presente tesis.

2.2. Antecedentes

Desde 2004, el Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments (CERPTA), actualmente Centre d'Innovació, Recerca i Transferència en Tecnologia dels Aliments (CIRTTA), de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) ha participado en dos proyectos europeos sobre la tecnología de UHPH. En el primer proyecto europeo, del cual el CERPTA fue el coordinador (CRAFT 512626: Development and optimization of a continuous ultra high pressure homogenizer for application on milks and vegetable milks) se estudiaron los cambios producidos en leche y distintos licuados vegetales tratados por UHPH y su capacidad potencial para producir distintos derivados como queso y yogur. En el segundo proyecto europeo (FUNENTECH 232603: Study of functionality, nutritional and safety aspects of liquid foods, liquid foods preparations and cosmetics processed by ultra-high pressure homogenization), concedido en 2008, se estudió la funcionalidad tecnológica y biológica de alimentos y cosméticos procesados por UHPH para diseñar alimentos funcionales seguros y con alto valor nutricional, reforzando el uso de la UHPH en el sector alimentario y cosmético. Además, el grupo de investigación ha participado en varios proyectos nacionales y autonómicos para seguir con la evaluación potencial de la tecnología UHPH en distintos alimentos líquidos (leche, bebidas vegetales, jugos, vino, emulsiones agua-aceite, etc.) para la producción de alimentos frescos, más estables y libres de aditivos.

Respecto al uso de la UHPH en nata, se realizó un estudio previo para evaluar su potencialidad como tratamiento alternativo a la pasteurización-homogenización convencional para su conservación. En este estudio las muestras de nata (20% grasa) se procesaron a 300 MPa y $T_i = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se compararon con muestras tratadas mediante homogenización convencional (15 MPa) seguidas de un proceso térmico de pasteurización ($65\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min), y muestras sin tratar usadas como control. El tratamiento de UHPH redujo el diámetro de los glóbulos de grasa produciendo una distribución de partícula bimodal con un pico principal de $\sim 0,4\text{ }\mu\text{m}$ y un pico secundario minoritario a $\sim 2\text{ }\mu\text{m}$ debido a la formación de agregados por falta de proteína para su cobertura, por lo que se incluyó en el estudio un lote de nata que fue adicionada de un 1,5% de caseinato

de sodio antes de su procesado por UHPH. En este estudio se comprobó que el tratamiento de UHPH mejoraba la calidad microbiológica de las natas, aumentando su vida útil microbiológica en comparación con los tratamientos convencionales. Además, y sobre todo en las muestras añadidas de caseinato de sodio, también lograba una reducción del tamaño de partícula, mejorando la estabilidad física de las natas durante su almacenamiento (Rodarte *et al.*, 2018). Los buenos resultados obtenidos de estos tratamientos para la conservación de las natas comerciales, hizo plantear el estudio sobre su potencialidad como ingrediente para la elaboración de quesos reducidos en grasa, que es el objeto de esta tesis doctoral.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

Estudiar los efectos de la tecnología de homogenización a ultra alta presión (UHPH) sobre la fase grasa de la leche (nata) y la incorporación de ésta en la leche de quesería para la elaboración de quesos reducidos en grasa.

2.3.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos de la tesis han sido: (1) Estudiar el efecto de la incorporación de natas tratadas por UHPH en la leche desnatada de quesería, sobre las propiedades de coagulación enzimática, rendimiento potencial quesero y microestructura de los geles; (2) Evaluar el efecto de la incorporación de natas tratadas mediante UHPH en las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas, sensoriales, de color y textura de quesos frescos reducidos en grasa, en comparación con quesos elaborados a partir de natas tratadas por métodos convencionales; (3) Evaluar el efecto de la incorporación de nata tratada mediante UHPH en las características fisicoquímicas, bioquímicas, sensoriales, de color y textura de quesos madurados y reducidos en grasa, en comparación con quesos elaborados a partir de nata pasteurizada.

2.4. Plan de trabajo

Para cumplir con los objetivos de esta tesis se diseñaron tres experimentos, el diseño experimental de los cuales está representado esquemáticamente en las Figuras 2.1 - 2.3. En el estudio 1 (Figura 2.1) se evaluó el efecto del tratamiento de UHPH de la nata sobre las propiedades de coagulación enzimática, microestructura de los geles y rendimiento

quesero potencial de las leches adicionadas de una nata ligera (20% de grasa), en comparación a leches adicionadas de natas tratadas por tratamientos convencionales de homogenización y/o pasteurización. Se elaboraron un total de 4 natas: nata pasteurizada (NP), nata homogeneizada-pasteurizada (NPH) y 2 natas tratadas por UHPH (NUH y NUHC), la última de ellas adicionadas de caseinato sódico (1,5%). A partir de estas natas se obtuvieron un total de 4 leches de quesería con 1,5% de grasa: leche pasteurizada (LP), leche homogeneizada-pasteurizada (LPH), y 2 leches tratadas por UHPH (LUH y LUHC).

En el estudio 2 se evaluó el efecto de la incorporación de las natas tratadas por UHPH en las características fisicoquímicas, bioquímicas, microbiológicas y sensoriales de quesos frescos reducidos en grasa, en comparación a los quesos elaborados a partir de natas tratadas por métodos convencionales de pasteurización y homogenización-pasteurización (Figura 2.2). Se obtuvieron un total de 5 leches de quesería que se transformaron en los quesos frescos respectivos: 2 leches pasteurizadas (LE con 3,2% y LP con 1,5% de grasa), LPH, y las 2 leches tratadas por UHPH (LUH y LUHC) para obtener los quesos correspondientes (QEf, QPf, QPHf, QUHf y QUHCf). Los 5 tipos de quesos frescos se almacenaron durante 7 días a 4 °C.

De los mejores quesos obtenidos en el estudio 2, se diseñó un protocolo de elaboración para quesos madurados (Figura 2.3). Se obtuvieron 3 tipos de quesos madurados (QEm, QPm y QUHCm) elaborados a partir de las leches LE, LP y LUHC, respectivamente, y se realizaron análisis fisicoquímicos, bioquímicos y sensoriales de los quesos durante la maduración.

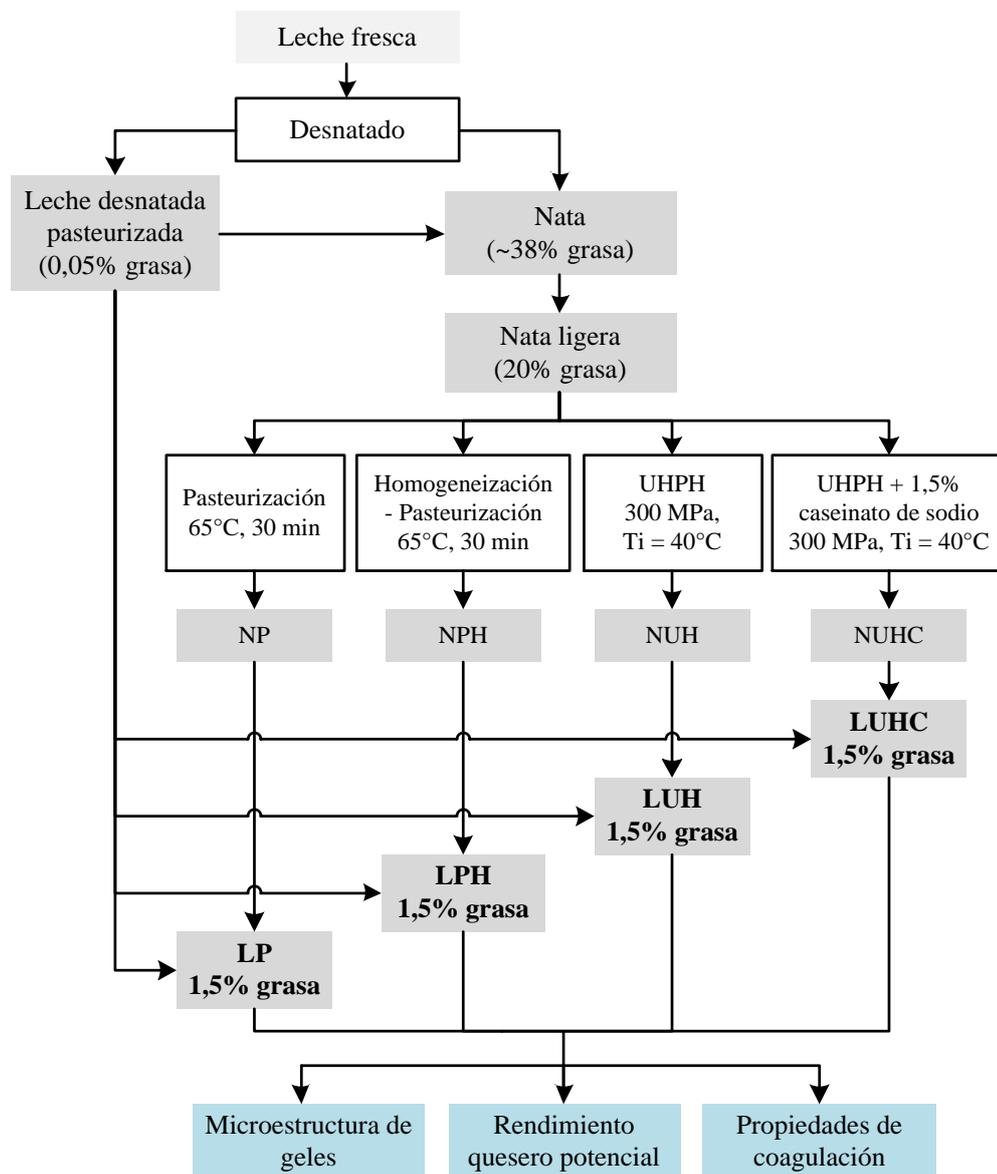


Figura 2.1. Diagrama de obtención, tratamiento y análisis efectuados en las natas durante su vida útil a 4 °C (Estudio 1).

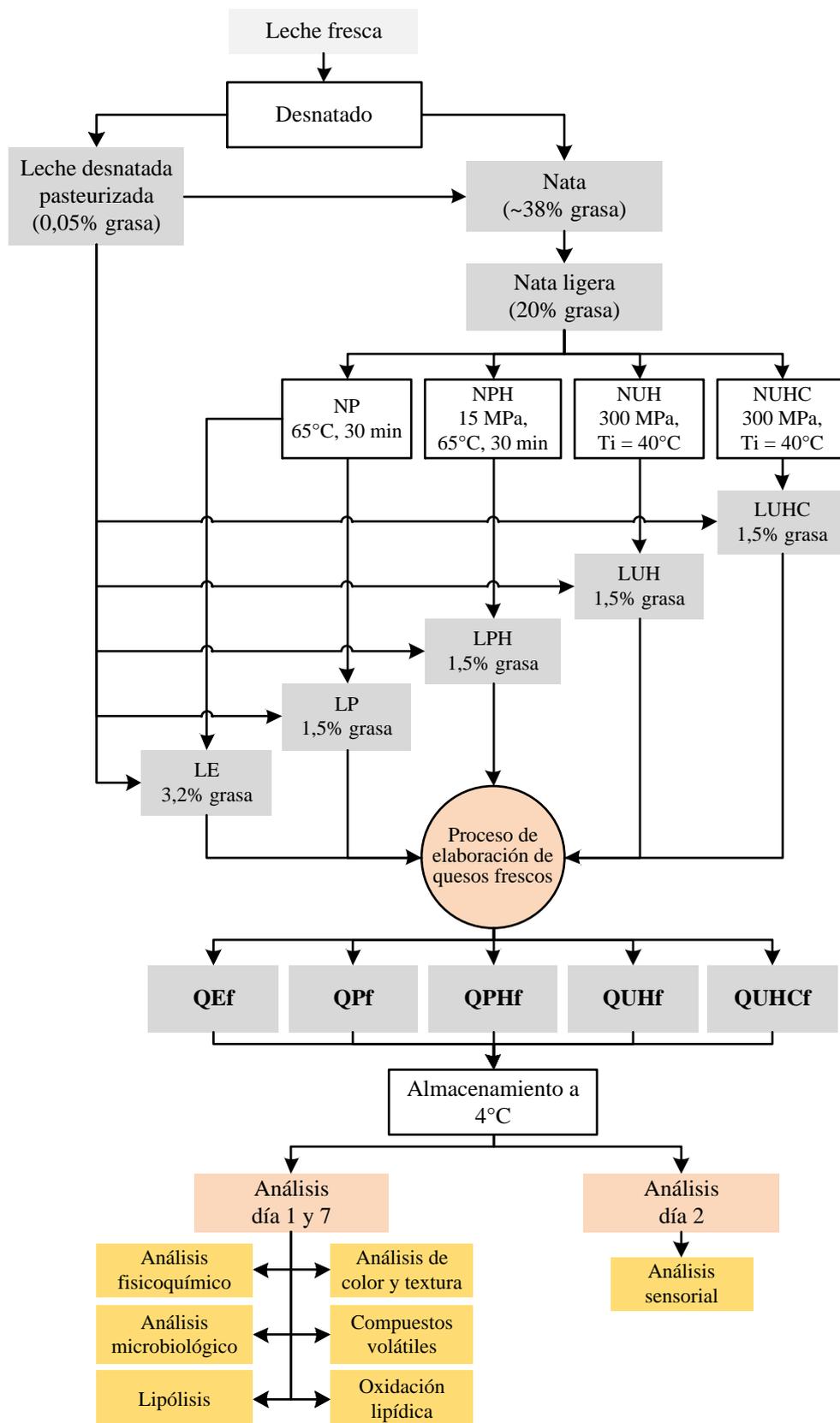


Figura 2.2. Diagrama de obtención de las leches de quesería y análisis efectuados a los quesos frescos durante su almacenamiento a 4 °C (Estudio 2).

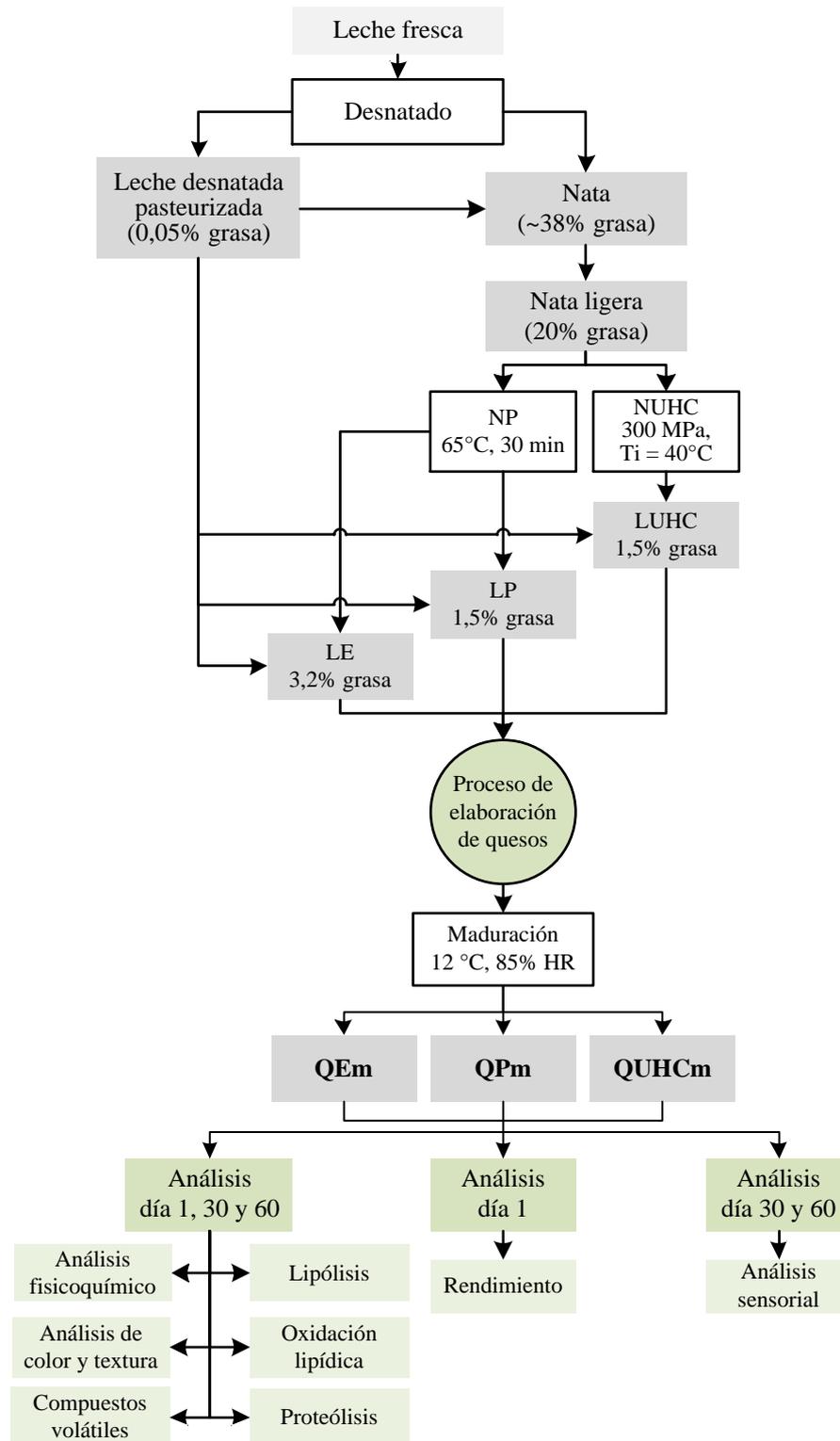


Figura 2.3. Diagrama de obtención de las leches de quesería y análisis efectuados a los quesos madurados durante la maduración (Estudio 3).

2.5. Referencias

- Drake, M.A. & Swanson, B.G. (1995). Reduced- and low-fat cheese technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*, **6**, 366-369.
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A. & Blayo, C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science and Technology*, **31**, 13-26.
- Karaman, A.D. & Akalin, A.S. (2013). Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream. *LWT - Food Science and Technology*, **50**, 503-510.
- Karaman, A.D., Benli, M. & Akalin, A.S. (2012). Microstructure of industrially produced reduced and low fat Turkish white cheese as influenced by the homogenization of cream. *Grasas y Aceites*, **63**, 267-273.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P. & Kondyli, E. (2002). Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures. *International Dairy Journal*, **12**, 757-764.
- Kavas, G., Oysun, G., Kinik, O. & Uysal, H. (2004). Effect of some fat replacers on chemical, physical and sensory attributes of low-fat white pickled cheese. *Food Chemistry*, **88**, 381-388.
- Madadlou, A., Mousavi, M.E., Khosrowshahi asl, A., Emam-Djome, Z. & Zargarán, M. (2007). Effect of cream homogenization on textural characteristics of low-fat Iranian White cheese. *International Dairy Journal*, **17**, 547-554.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1994). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 1. Manufacture, Composition, and Yield. *Journal of Dairy Science*, **77**, 3506-3515.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1995). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 2. Microstructure, Fat Globule Distribution, and Free Oil. *Journal of Dairy Science*, **78**, 1883-1895.
- Parodi, P.W. (2009). Milk Fat Nutrition. En: *Dairy Fats and Related Products* (editado por A.Y. Tamime). Pp. 28-51. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.
- Poduval, V.S. & Mistry, V. V. (1999). Manufacture of Reduced Fat Mozzarella Cheese Using Ultrafiltered Sweet Buttermilk and Homogenized Cream. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1-9.
- Rodarte, D., Zamora, A., Trujillo, A.J. & Juan, B. (2018). Effect of ultra-high pressure homogenization on cream: Shelf life and physicochemical characteristics. *LWT -*

- Food Science and Technology*, **92**, 108-115.
- Romeih, E.A., Michaelidou, A., Biliaderis, C.G. & Zerfiridis, G.K. (2002). Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: Chemical, physical and sensory attributes. *International Dairy Journal*, **12**, 525-540.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Guo, M.R. & Kindstedt, P.S. (1998). Effect of the Modification of Fat Particle Size by Homogenization on Composition, Proteolysis, Functionality, and Appearance of Reduced Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **81**, 2065-2076.
- Sipahioglu, O., Alvarez, V.B. & Solano-Lopez, C. (1999). Structure, physico-chemical and sensory properties of feta cheese made with tapioca starch and lecithin as fat mimetics. *International Dairy Journal*, **9**, 783-789.
- Zamora, A. & Guamis, B. (2015). Opportunities for Ultra-High-Pressure Homogenisation (UHPH) for the Food Industry. *Food Engineering Reviews*, **7**, 130-142.

Capítulo 3

Capítulo 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Obtención de la nata

En los diferentes estudios se utilizó leche fresca de vaca proveniente de una granja lechera local (SAT 5717 Can Badó, Santa Agnès de Malanyanes, Barcelona, España) y se sometió a un proceso de desnatado mecánico a 74 °C durante 15 s, con una centrífuga (Seital SE 02.0V, 500 L/h, Santorso VI, Italia), obteniéndose nata cruda y leche desnatada. La nata se estandarizó con la leche desnatada hasta obtener una nata ligera al 20% de grasa.

3.2. Tratamientos de la nata y de la leche desnatada

Se realizaron 4 lotes de nata. Un lote se pasteurizó a 65 °C durante 30 min con un pasteurizador en batch (TB-1009 184, Grace, SA, Viladecans, Barcelona, España) para obtener nata pasteurizada (NP). A otro lote se le aplicó un tratamiento de homogenización convencional de una etapa mediante un homogeneizador (Tetra Alex® S05, 300 L/h, Tetra Pak, Lund, Suecia) a 15 MPa, seguido de una pasteurización en batch a 65 °C durante 30 min, para obtener nata homogenizada y pasteurizada (NPH). En esta ocasión, la nata se calentó previamente a 45 °C con el fin que la materia grasa contenida en los glóbulos de grasa estuviese en forma líquida y así garantizar una buena calidad de homogeneización. Asimismo, los otros dos lotes de nata fueron tratados mediante UHPH a 300 MPa a una temperatura de entrada (T_{in}) de 40 °C, con un equipo de UHPH (modelo FPG11300, 100 L/h, Stansted Fluid Power, Barlow, Reino Unido) (Figura 1.2). Este equipo consta de tanque de alimentación (Garvía S.A., Barcelona, España) y un intercambiador de calor para ajustar la T_{in} del producto a la válvula de UHPH. La válvula del ultra homogeneizador es de material cerámico capaz de soportar 350 MPa, y una segunda válvula neumática convencional, se sitúa justo después de la válvula UHPH, capaz de alcanzar hasta 50 MPa (Figura 1.2). Los termopares y manómetros situados en las válvulas correspondientes midieron las temperaturas (T_1 y T_2) y los cambios en las presiones, respectivamente. El sistema de alta presión contiene 2 intensificadores accionados por una bomba hidráulica, los cuales actúan de manera sincronizada permitiendo un flujo constante del producto a la válvula de homogenización. Con el fin de enfriar el producto después del tratamiento, se utilizaron dos intercambiadores de calor de tipo espiral (Garvía S.A.) situados detrás de la segunda válvula. Este sistema incluye también la conexión del tubo de salida del producto a una cabina de flujo laminar, dónde

se realizó la recogida del producto para minimizar la posible contaminación microbiana después del tratamiento aplicado. La velocidad de flujo de la nata en el homogeneizador fue de aproximadamente 8 L/h. Antes de su uso, el equipo UHPH fue lavado con agua caliente, aplicando una presión de ~ 50 MPa, para eliminar todo producto residual. Luego fue desinfectado con una solución circulante de agua (80%) y desinfectante (20%) consistente en ácido peracético y peróxido de hidrógeno (P3-Oxonia active, Ecolab Hispano Portugués, Barcelona, España). Adicionalmente se esterilizó las tuberías con una circulación de vapor de agua a 135-140 °C durante 40 min. Las muestras de nata homogenizadas por UHPH se recogieron en recipientes estériles en cabina de flujo laminar y posteriormente se almacenaron a 4 °C.

De los dos lotes tratados por UHPH (NUH), a uno, previamente al tratamiento se le añadió caseinato de sodio (110, Zeus Química, Barcelona, España) en una concentración de 1,5% (NUHC). Dicha adición se realizó para evitar una posible aglomeración de las partículas de grasa posterior al tratamiento por UHPH debido al insuficiente recubrimiento proteico de los nuevos glóbulos grasos formados. La leche desnatada se pasteurizó en un pasteurizador tubular (Garvía, S.A.) a 72 °C por 15 s.

3.3. Análisis de la leche y la nata

La determinación del contenido de grasa de la leche utilizada para estandarizar la nata se realizó según el método de Gerber (IDF, 1981). Para determinar el contenido de grasa de la nata se utilizó el método Roeder, introduciendo 5 g de nata en la copa del butirómetro para nata, y posteriormente adicionando 15 mL de ácido sulfúrico (60%, densidad: 1522 g/mL) y 1 mL de alcohol isoamílico. Los butirómetros se cerraron y mezclaron hasta una digestión completa de la nata. Posteriormente, el butirómetro se colocó en un baño de agua a 70 °C durante 20 min, y se centrifugó durante 5 min a 2000 rpm. La lectura se realizó directamente sobre la columna graduada del butirómetro. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

3.4. Propiedades de coagulación enzimática, rendimiento potencial quesero de las leches, y microestructura de los geles

3.4.1 Preparación de las leches

Para la preparación de las leches de quesería se utilizó leche desnatada pasteurizada la cual fue estandarizada al 1,5% de grasa por mezcla de las distintas natas ligeras (20% de

grasa) tratadas por homogeneización (convencional o UHPH) y/o pasteurización. Se obtuvieron un total de 4 leches de quesería con 1,5% de grasa: leche pasteurizada por mezcla de leche desnatada y NP (LP), leche homogeneizada-pasteurizada por mezcla de leche desnatada y NPH (LPH), y 2 leches tratadas por UHPH por mezcla de leche desnatada y NUH o NUHC (LUH y LUHC, respectivamente).

3.4.2. Propiedades de coagulación de las leches

Las propiedades de coagulación de las leches se evaluaron por triplicado mediante el equipo Optigraph (Ysebaert Inc., Frepillon, Francia). Las muestras de leche (10 mL) se calentaron a 32 °C y se añadió 0,035% (v/v) de quimosina recombinante (actividad enzimática declarada de 180 IMCU/mL, Maxiren 180, DSM Food Specialties, Seclin Cedex, Francia). La coagulación se llevó a cabo a 32 °C durante 60 min. Se determinó la velocidad de agregación micelar (RCF), y la firmeza de la cuajada (CF) a 45 y 60 min.

3.4.3. Rendimiento queso potencial de las leches

El rendimiento queso potencial de las leches en estudio se obtuvo según el método descrito por Macheboeuf *et al.* (1993). Las muestras de leche (200 mL) se calentaron a 32 °C y se añadió 0,035% (v/v) de la solución enzimática de quimosina. La coagulación se llevó a cabo en tubos de centrifuga en un baño a 32 °C durante 30 min por cuadruplicado. Posteriormente los tubos con el coágulo se centrifugaron a 13000 × g durante 15 min a 10 °C (Sigma 4K15, Postfach, Germany). El rendimiento potencial queso fue expresado como gramos de cuajada por cien gramos de leche.

3.4.4. Microestructura de las cuajadas mediante microscopía láser confocal

Para observar la microestructura de las cuajadas se utilizó microscopía láser confocal utilizando diferentes fluoróforos (Michalski *et al.*, 2002). La matriz proteica de las cuajadas fue teñida mediante isotiocianato de fluoresceína (FITC; Fluka, Steinheim, Alemania), y los glóbulos de grasa con Nile-Red (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). El FITC y Nile-Red se disolvieron en etanol a una concentración de 2 y 1 mg/mL, respectivamente. Las muestras de leche (10 mL) se calentaron a 32 °C y se tiñeron con 2 gotas de FITC y 3 gotas de Nile-Red, y después se añadió 0,035% (v/v) de la solución de quimosina a las leches teñidas. Posteriormente, se transfirieron de 2 a 3 gotas a un portaobjetos con cavidades cóncavas y fueron cubiertas con un cubreobjetos. Luego, fueron sellados para evitar la evaporación, y se incubaron a 30 °C durante 30 min.

El microscopio confocal (Leica TCS SP5 AOBS, Heidelberg, Alemania) estuvo equipado

con un objetivo Leica de 63× de aumento y de 1,4 a 0,6 de apertura numérica. Las muestras se excitaron con un láser de argón a 488 nm. Las micrografías fueron adquiridas simultáneamente en 2 canales (500 a 550 nm y 561-590 a 800 nm) en formatos de 512 × 512 píxeles, con distancias de 0,8 μm entre corte. Las micrografías tridimensionales se obtuvieron por la proyección promedio de 4 cortes por tratamiento con el programa Leica de tratamiento de imágenes.

3.5. Producción de quesos

3.5.1. Producción de queso fresco

Se fabricaron 5 tipos diferentes de quesos frescos a partir de las leches antes descritas: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa (QEf) por adición de NP, queso reducido en grasa elaborado con LP (QPf), queso reducido en grasa elaborado con leche LPH (QPHf), queso reducido en grasa elaborado con LUH (QUHf), y queso reducido en grasa elaborado con LUHC (QUHCf).

Todas las leches, en lotes de 7 L, se calentaron a 32 °C con agitación manual previo a la adición de NaCl (1% p/v) y de una solución al 35% (p/v) de CaCl₂ (0,03% v/v). La coagulación de la leche se realizó con 0,035% (v/v) de cuajo de ternero (actividad coagulante 1:10000, quimosina > 70%, Arroyo Laboratorios, Santander, España) a 32 °C durante 45 min. Posteriormente la cuajada se cortó manualmente en granos de 1 cm aproximadamente y se mantuvo en reposo a 37 °C durante 15 min. La cuajada fue vertida en moldes de polipropileno (250 g, ETS A. Coquard, Villefranche-sur-Saône, Francia) y el suero fue drenado en el propio molde por gravedad durante 2 h a 10 °C. Los quesos envasados se mantuvieron a 4 °C durante un periodo de almacenamiento de 7 días.

3.5.2. Producción de queso madurado

Se fabricaron 3 tipos diferentes de quesos para su maduración: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa a partir de NP (QEm), queso reducido en grasa elaborado con LP (QPm) y queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a partir de LUHC (QUHCm).

Todas las leches, en lotes de 20 L, se atemperaron a 32 °C con agitación manual previo a la adición de una solución al 35% de CaCl₂ (0,03% v/v). Las leches fueron inoculadas con 2% (v/v) de cultivo liofilizado de mesófilos homofermentativos (serie ChoozitTM MA 11 LYO 50 DCU, Danisco, Dupont Nutrition and Health, Wilmington, Delaware,

Estados Unidos) compuesto de *Lactococcus lactis subsp. lactis* y *Lactococcus lactis subsp. cremoris*. La coagulación de la leche se realizó con 0,035% (v/v) de cuajo de ternero (actividad coagulante 1:10000, quimosina > 70%, Arroyo Laboratorios) a 32 °C durante 45 min. Posteriormente, la cuajada se cortó manualmente en granos de 1 cm aproximadamente y se mantuvo en reposo a 37 °C durante 15 min. La cuajada fue vertida en moldes pequeños tipo portugués (Industrias Plásticas Arroyo S.A. Santander, España) con capacidad para ~ 380 g. Los moldes fueron prensados a 49 y 98 kPa/cm² por 30 y 120 min, respectivamente, en una prensa vertical (Talleres Garvía, Barcelona, España). Los quesos fueron salados por inmersión en salmuera (19% NaCl) a 12 °C durante 30 min. Finalmente, los quesos se maduraron a 12 °C y 85% de humedad relativa, con volteos sucesivos por día, hasta los 60 días de maduración.

El rendimiento de los quesos madurados se determinó durante los días de almacenamiento, y fue expresado como gramos de queso obtenido por cada cien gramos de leche.

3.6. Análisis fisicoquímicos de los quesos

Los análisis fisicoquímicos de los quesos frescos se realizaron a los días 1 y 7 de almacenamiento a 4 °C, mientras que para los quesos madurados se realizaron a los días 1, 30 y 60 de almacenamiento. El contenido de grasa fue analizado por duplicado según el método de van Gulik (ISO, 1975). El contenido de nitrógeno total se cuantificó por combustión según el método Dumas (IDF, 2002). Estos valores se utilizaron para determinar el contenido de proteína multiplicándolos por el factor 6,38. El porcentaje de sólidos totales (ST) fue determinado por el método de desecación en estufa a 102 °C (IDF, 2004), y el contenido de humedad se determinó por diferencia de 100–ST.

El pH de los quesos se determinó utilizando un pH-metro (Crison micro-pH 2001, Alella, Spain) en un homogenizado de queso/agua destilada (1:1 m/m). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

3.7. Análisis microbiológicos

Para realizar los análisis microbiológicos se realizaron las diluciones adecuadas en agua de peptona. Para obtener la dilución inicial de 10⁻¹ se tomaron 10 g de queso que fueron homogenizados con 90 mL de agua de peptona estéril (Oxoid LTD) durante 1 min en un

homogeneizador electromecánico (Stomacher Lab-blender 400; Seward Medical, London, Reino Unido). Las siguientes diluciones decimales se realizaron con agua de peptona hasta 10^{-5} . Las siembras de aerobios mesófilos totales y psicrótrofos fueron realizadas en medio PCA (Oxoid LTD) incubadas a 30 °C durante 48 h y 21 °C durante 72 h, respectivamente. Las enterobacterias se sembraron en agar bilis glucosa rojo violeta (VRBG) (Oxoid LTD) e incubadas a 37 °C durante 24 h. Para el análisis de esporas, las muestras de queso homogenizado con agua de peptona se sometieron a un choque térmico (85 °C, 5 min) y enfriado inmediatamente en un baño de hielo. La siembra se realizó en PCA y fueron incubados a 30 °C durante 48 h. Todas las pruebas se realizaron por duplicado, y los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia (ufc) por gramo de queso.

3.8. Proteólisis

Para la obtención de los extractos solubles en agua se utilizó el método propuesto por Kuchroo y Fox (1982) homogenizando 30 g de queso finamente rallado con 60 mL de agua destilada, mediante un homogeneizador Ultraturrax (Dix 900, Heldolph, Alemania) a 3000 rpm durante 5 min. La suspensión obtenida se calentó en baño isotérmico con agitación a 40 °C durante una hora. Seguidamente, se centrifugó a 7000 rpm durante 30 min a 10 °C. El sobrenadante obtenido por centrifugación se filtró a través de lana de vidrio.

Para la obtención de la fracción de nitrógeno soluble en agua (NSA) se tomaron 30 mL del extracto soluble y se añadieron 4 mL de ácido acético al 10% y 3,5 mL de acetato de sodio 1 M para obtener en la solución un pH de 4,6. La solución obtenida se mezcló y se aforó hasta 50 mL con agua destilada. Se dejó en reposo 12 h a 5 °C y luego se filtró con papel Whatman N° 1 obteniéndose el nitrógeno soluble a pH 4,6 (NS4,6).

La determinación de aminoácidos libres totales se realizó a partir del NSA mediante reacción con cadmio-ninhidrina, según el método propuesto por Folkertsma y Fox (1992). Para ello se mezclaron de 40 a 70 μ L de NSA (según periodo de maduración de los quesos) con agua destilada hasta un volumen final de 1 mL. Se añadieron 2 mL de reactivo Cd-ninhidrina. El reactivo se preparó mezclando 0,8 g de ninhidrina diluida en una mezcla de 80 mL de etanol al 99,5% y 10 mL de ácido acético, al que se añadió 1 g de CdCl₂ disuelto en 1 mL de agua destilada. La mezcla (muestra + reactivo) fue calentada a una temperatura de 84 °C por 5 min y luego fue enfriada por el mismo tiempo a temperatura

ambiente. La absorbancia de las soluciones fue medida a 507 nm de longitud de onda, en un espectrofotómetro de doble haz (UV-VIS 2310, Dinko Instruments, Barcelona, España). Se realizó una recta de calibración con distintas concentraciones de L-leucina. Los resultados se obtuvieron por triplicado y se expresaron en miligramos de Leu por gramo de queso.

3.9. Lipólisis

La extracción de la fracción lipídica del queso se realizó según el método modificado de De Jong y Badings (1990). En un tubo de vidrio con tapón de rosca se depositó 1 g de queso previamente triturado y homogenizado, junto con 3 g de Na₂SO₄ anhidro, 300 µL de H₂SO₄ (2,5 M) y 30 µL de solución de patrón interno (ácido heptanoico: 37,3 mg/mL) y fueron agitados durante 3 min. Seguidamente, se añadieron 3 mL de éter dietílico-heptano (1:1 v/v) y se centrifugó a 1200 rpm durante 3 min. El sobrenadante fue transferido a un tubo de tapón de rosca que contenía 1 g de Na₂SO₄ anhidro. Esta operación fue repetida 3 veces. El extracto lipídico fue fraccionado utilizando una columna de aminopropilo Spe-ed NH₂ 500 mg/mL (Applied Separations, Allentown, PA, Estados Unidos) que fue acondicionada con 10 mL de heptano. Para eluir los triglicéridos se añadieron 20 mL de hexano:2-propanol (3:2 v/v), mientras que los ácidos grasos libres (AGL) se eluyeron con 5 mL de dietil éter conteniendo 2% de ácido fórmico. Se realizó una inyección directa de esta disolución (1 µL) para los análisis de cromatografía de gases. Para cada muestra se realizaron dos extracciones.

Los AGL extraídos se analizaron en un equipo de cromatografía gaseosa Hewlett Packard (6890 HP Series II, CA, Estados Unidos), equipado con un inyector automático en columna y un detector de ionización de llama (FID). Se utilizó una columna capilar de sílice fundido TRB-FFAP (30 m × 0,25 mm ID × 0,25 µm). Las muestras fueron analizadas antes de las 24 h posteriores a la extracción debido a la volatilidad del solvente empleado. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: la temperatura se elevó de 50 a 240 °C a un rango de 5 °C/min durante 20 min. El gas portador fue helio de alta pureza a velocidades de 0,9 mL/min. La adquisición y tratamiento de los datos se realizó con el programa HP 6890 ChemStation de Agilent Technologies.

Se calcularon las proporciones de ácidos grasos de cadena corta (AGCC, C4:0, C6:0 y C8:0), ácidos grasos de cadena media (AGCM, C10:0, C12:0 y C14:0) y ácidos grasos de cadena larga (AGCL, C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2). Los valores de los resultados se

expresaron como abundancia de AGL.

3.10. Oxidación lipídica

La oxidación lipídica de los quesos se realizó por duplicado según el método del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) descrito por Vyncke (1975). Se homogenizaron ~ 2 g de queso finamente rallado con 30 mL de una disolución que contenía 7,5% de ácido tricloroacético, 0,1% de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y 0,1% de galato de propilo en etanol, mediante un homogeneizador Ultraturax (Diax 900, Heldolph, Alemania) a 3000 rpm durante 5 min. Seguidamente se filtró a través de papel de filtro Watman N° 1. Se tomaron alícuotas de 5 mL del filtrado y se mezclaron con 5 mL de TBA (0,02 M en agua destilada) en tubos con tapa. Seguidamente se calentaron en un baño de agua a 85 °C durante 40 min. La absorción de luz fue medida a 530 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro de doble haz (UV-VIS 2310, Dinko Instruments, Barcelona, España), frente a un blanco que contuvo volúmenes iguales de agua destilada y solución de TBA 0,02 M. Los valores de TBARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) se obtuvieron de la recta estándar de calibración con distintas concentraciones de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) y se expresaron en miligramos de malonaldehído (MDA) por kilogramo de queso.

3.11. Compuestos volátiles

Para la determinación de los compuestos volátiles de los quesos se colocaron 2,5 g de queso en un vial de 10 mL sellado con septos de silicona PTFE (Supelco Bellefonte, PA, Estados Unidos). Las muestras se calentaron a 40 °C durante 10 min antes de la exposición a la fibra. La fibra de 85 µm CAR/PDMS (Supelco Bellefonte, PA, Estados Unidos) se expuso en el espacio de cabeza del vial durante 30 min a 40 °C.

La desorción de los compuestos volátiles de las muestras se realizó manualmente en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases Agilent 6890 acoplado a un espectrómetro de masas 5975 MSD (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, Estados Unidos) en modo *splitless* a 250 °C, durante 10 min. Se utilizó una columna capilar Agilent 19091N-136 (60 m × 250 µm × 0,25 µm). El gas transportador fue He con un flujo de 1 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo inicialmente a 40 °C durante 5 min, se calentó a 220 °C con una velocidad de 5 °C/min, donde se mantuvo durante 10 min, dando un

tiempo total de 51 min. El detector se utilizó en modo de ionización por impacto de electrones con un intervalo de masa de 30-250 m/z.

La identificación de compuestos volátiles se realizó mediante la comparación de los espectros con los de la biblioteca NIST08 (NIST/EPA/NIH, National Institute of Standards and Technology/Environmental Protection Agency/National Institutes of Health). Las señales se procesaron usando el software Agilent Technology (Santa Clara, CA). El límite de detección (LD) corresponde a la menor cantidad del compuesto cuya señal puede distinguirse del ruido del cromatograma. El valor del LD se obtuvo a partir de la media de 7 áreas de los blancos más tres veces la desviación estándar de los valores obtenidos. Para mostrar las diferencias entre los diferentes tratamientos, los valores de los datos se expresaron como área de pico.

3.12. Análisis instrumental y sensorial

3.12.1. Color

El color de los quesos se determinó utilizando un espectrocolorímetro HunterLab portátil (MiniScan XE, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, Virginia, Estados Unidos). Se utilizó el iluminante D65 con 10° de observación. El colorímetro se calibró con los estándares blanco y negro. El valor L^* define la luminosidad que oscila entre 0-100 (blanco-negro). Los valores de los ejes a^* y b^* van de positivo a negativo, indicando componentes de rojo-verde y amarillo-azul, respectivamente. Los valores L^* , a^* y b^* fueron medidos en ocho puntos diferentes de la superficie interna de los quesos cortados en dos mitades. Las diferencias totales de color (ΔE) de todos los quesos reducidos en grasa, respecto al queso control (QEf) se calcularon utilizando la fórmula $\sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$. Las determinaciones del color en quesos frescos se realizaron al primer y séptimo día de almacenamiento, mientras que para los quesos maduros se realizó a los días 1, 30 y 60 de maduración. Los análisis se realizaron a ~ 20 °C.

3.12.2. Análisis de textura

Los análisis de perfil de textura (TPA) y de compresión uniaxial (CU) se realizaron utilizando un texturómetro TA-TX2 (Stable Micro System Ltd, Surrey, Reino Unido) provisto de una sonda de 36 mm de diámetro y una celda de 245 N de carga. Las muestras de queso se equilibraron a una temperatura de 20 °C durante ~ 2 h y se retiró la parte externa de ambos lados del queso. Posteriormente, se obtuvieron muestras de quesos en

forma de cubos de 1,5 cm³ con la ayuda de una canaleta de acero inoxidable de 1,5 cm de distancia. Se obtuvieron ~ 10 y ~ 6 cubos de quesos frescos y maduros, respectivamente, para cada análisis.

Para el análisis de TPA, los quesos se comprimieron al 80% de su altura original, con una velocidad de deformación de 5 mm/s. Los parámetros determinados fueron: dureza, adhesividad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y elasticidad, tal y como fueron descritos por Al-Otaibi y Wilbey (2006) y Gunasekaran y Ak (2003). Los datos fueron procesados con el programa Texture Expert (versión 6.1.9.0 para Windows).

Para el ensayo de CU, los quesos se comprimieron al 50% de su altura original, con una velocidad de deformación de 2 mm/s. Los parámetros de estrés a la fractura (σ) y de tensión de fractura (ϵ) de los quesos fueron calculados a partir de las curvas descritas por Calzada y Peleg (1978):

$$\sigma_t = \frac{F_{(t)}}{A_{(t)}} \quad (1)$$

Donde σ_t = fracturabilidad al tiempo (t) (N/cm²), $F_{(t)}$ = fuerza al tiempo (t) (N) y $A_{(t)}$ = área al tiempo (t) (cm²).

$$\epsilon = \ln \frac{H_0}{H_0 - \Delta H} \quad (2)$$

Donde ϵ = deformación (-), H_0 = altura original de la muestra (mm) y ΔH = cambio de altura (mm).

Los análisis de TPA y CU en quesos frescos se realizaron al primer y séptimo día de almacenamiento, mientras que para los quesos maduros se realizó a los días 1, 30 y 60 de maduración.

3.12.3. Análisis sensorial

Para la realización del análisis sensorial de los quesos frescos se partió de un grupo de 20 catadores (10 hombres y 10 mujeres), con experiencia en la cata de quesos, evaluando cualitativamente las diferencias entre ellos. Las muestras de queso se cortaron en cuñas y se colocaron en platos blancos. Cada queso fue codificado con números de 2 dígitos al azar. Para neutralizar las propiedades sensoriales de los quesos, se les proporcionó agua a los panelistas. Primeramente, a los panelistas se les solicitó que indicaran las diferencias de percepción del color, dureza, sensación acuosa y aroma de los quesos frescos, respecto al queso control. En el caso del queso fresco el queso control utilizado fue QPf (queso reducido en grasa elaborado con leche estandarizada al 1,5% de grasa a partir de nata

pasteurizada). En los quesos madurados, a los panelistas se les solicitó que indicaran las diferencias de percepción del color, aroma, sabor (salado, ácido, amargo, picante y regusto) y textura (dureza, elasticidad y friabilidad) de los quesos, respecto al queso control. En los quesos madurados, el queso utilizado como control fue QPm (queso reducido en grasa elaborado con leche estandarizada al 1,5% de grasa a partir de nata pasteurizada). La escala utilizada en ambos análisis fue: 0 = no existe diferencias; ± 1 = diferencias mínimas; ± 2 = diferencias notables; ± 3 = diferencias considerables; ± 4 = diferencias muy considerables (Anexos 1 y 2). Finalmente, los panelistas ordenaron los quesos según su preferencia mediante la utilización de una escala hedónica de 9 puntos, donde 1 = disgusta extremadamente; 9 = gusta extremadamente y 5 = no gusta ni disgusta (Lawless y Heymann, 2010).

El análisis sensorial de los quesos frescos se llevó a cabo después de 2 días de almacenamiento, después de realizar los recuentos microbiológicos con el fin de garantizar la seguridad microbiológica. El análisis sensorial de los quesos madurados se realizó a los días 30 y 60 de maduración.

3.13. Análisis estadístico de datos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de todos los datos y los días de muestreo utilizando un modelo lineal general (GLM) del programa SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC, Estados Unidos). Para la comparación múltiple de los promedios de los datos, se utilizó la prueba de Duncan, considerando las leches y los quesos como factor principal dentro de los días de almacenamiento o maduración. Las evaluaciones se basaron en un nivel de significación de $P < 0,05$.

3.14. Referencias

- Al-Otaibi, M.M. & Wilbey, R.A. (2006). Effect of chymosin reduction and salt substitution on the properties of white salted cheese. *International Dairy Journal*, **16**, 903-909.
- Calzada, J.F. & Peleg, M. (1978). Mechanical interpretation of compressive stress-strain relationships of solid foods. *Journal of Food Science*, **43**, 1087-1092.
- De-Jong, C. & Badings, H.T. (1990). Determination of Free Fatty Acids in Milk and Cheese Procedures for Extraction, Clean up, and Capillary Gas Chromatographic

- Analysis. *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 94-98.
- Folkertsma, B. & Fox, P.F. (1992). Use of the Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening. *Journal of Dairy Research*, **59**, 217-224.
- Gunasekaran, S. & Ak, M.M. (2003). *Cheese Rheology and Texture*. 1st edn. Boca Raton: CRC Press LLC.
- IDF. (1981). Milk determination of fat content. Butyrometer Gerber IDF Standard 105. Brussels, Belgium. *International Dairy Federation*.
- IDF. (2002). Milk and milk products - Determination of nitrogen content. IDF Standard 185:2002/ISO 14891. Brussels, Belgium. *International Dairy Federation*.
- IDF. (2004). Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content. IDF Standard 004:2004. Brussels, Belgium. *International Dairy Federation*.
- ISO. (1975). Cheese - Determination of fat content - van Gulik method. ISO Standard 3433. Leusden, Netherlands. *International Standards Organization*.
- Kuchroo, C.N. & Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, **37**, 331-335.
- Lawless, H.T. & Heymann, H. (2010). Preference Testing. En: *Sensory Evaluation of Food* (editado por H.T. Lawless & H. Heymann). Pp. 303-324. Springer, New York, NY.
- Macheboeuf, D., Coulon, J.-B. & D'Hour, P. (1993). Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows' milk coagulation properties. *Journal of Dairy Research*, **60**, 43-54.
- Michalski, M.C., Cariou, R., Michel, F. & Garnier, C. (2002). Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *Journal of Dairy Science*, **85**, 2451-2461.
- Vyncke, W. (1975). Evaluation of the Direct Thiobarbituric Acid Extraction Method for Determining Oxidative Rancidity in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, **77**, 239-240.

Capítulo 4

Capítulo 4. EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA-ALTA PRESIÓN SOBRE LA NATA: APTITUD TECNOLÓGICA DE LAS LECHES DE QUESERÍA Y MICROESTRUCTURA DE LOS GELES ENZIMÁTICOS

4.1. Introducción

La nata se define como el “producto lácteo fluido comparativamente rico en grasas, en forma de una emulsión de grasa en leche desnatada, que es obtenida por la separación física de la leche” (FAO/OMS, 2011) ya sea por gravedad o por fuerzas centrífugas. La nata es una valiosa fuente de energía que contribuye en gran medida a las características sensoriales (sabor, aroma, textura, etc.) de los productos lácteos y otros alimentos donde se incluye este componente de la leche (Hoffmann, 2011). La nata se clasifica en función al contenido de grasa, denominándose doble nata, nata o nata ligera si su contenido en materia grasa es del 50, entre 30 y 50, o menos del 30% sobre la masa del producto final, respectivamente (BOE, 1983). La gran mayoría de la grasa de la leche está organizada en glóbulos grasos emulsionados denominados glóbulos grasos de la leche los cuales están recubiertos por una membrana lipídica, la membrana del glóbulo graso (MFMG), compuesta de una mezcla compleja que consta principalmente de proteínas y fosfolípidos. La MFMG actúa como un emulsionante que proporciona la estabilización e impide la unión de los glóbulos grasos individuales (Cano-Ruiz y Richter, 1997).

La inestabilidad física representa uno de los factores más importantes para determinar la vida útil y la calidad de las natas (Abismaïl *et al.*, 2000). Los problemas más importantes que ocurren durante la fabricación de la nata son el cremado, la floculación y la coalescencia. El cremado es un proceso de separación gravitacional, en el que las pequeñas gotas de grasa con menor densidad de la emulsión tienden a moverse hacia la parte superior (Huppertz y Kelly, 2006). La floculación y la coalescencia son procesos de agregación (Walstra *et al.*, 2006). La floculación se define como la agregación de pequeñas gotas de grasa que producen flóculos tridimensionales en donde las gotas permanecen como cuerpos individuales, mientras que la coalescencia es la fusión de dos o más glóbulos de grasa en uno de mayor tamaño (Huppertz y Kelly, 2006; Huppertz *et al.*, 2009). Si bien, el cremado y la floculación pueden ser procesos reversibles, la coalescencia es un fenómeno de desestabilización irreversible. Se han tomado diferentes medidas para evitar la formación del cremado, pero hasta ahora la reducción del tamaño de los glóbulos grasos ha demostrado ser la solución más efectiva. Para conseguirlo, el

método de la homogeneización previo al tratamiento térmico se ha aplicado durante años en la industria láctea. No obstante, mientras que el principal propósito de la homogeneización es la estabilización del producto, el tratamiento térmico podría causar su desestabilización dependiendo de la intensidad y la duración del proceso (Liang *et al.*, 2013).

La homogeneización de la nata y su adición a la leche de fabricación quesera ha ofrecido buenos resultados en la fabricación de quesos reducidos en grasa, debido principalmente a la reducción del tamaño del glóbulo de grasa el cual se repartiría de manera homogénea por toda la estructura del queso actuando como centros ablandadores produciendo una textura más blanda y próxima a la del queso con toda su grasa (Metzger y Mistry, 1994, 1995; Poduval y Mistry, 1999; Karaman y Akalin, 2013). El tratamiento de UHPH consigue mayores reducciones del tamaño del glóbulo de grasa en comparación a la homogeneización convencional (Pereda *et al.*, 2007; Zamora *et al.*, 2012) y ofrece mayor estabilidad, calidad y seguridad de las emulsiones aceite-agua tratadas. Por lo tanto, con un tratamiento previo de la nata mediante UHPH y su incorporación posterior a la leche de quesería es de esperar que se puedan obtener resultados mejores de textura, en comparación a la homogeneización convencional, en la fabricación de quesos reducidos en grasa.

Rodarte *et al.* (2018) evaluó el tratamiento de UHPH (300 MPa, 40 °C) en comparación a la homogenización convencional más pasteurización, sobre las características fisicoquímicas de las natas. Estos autores pudieron observar como el tratamiento de homogenización-pasteurización reducía ~ 4 log la población de bacterias totales respecto a una muestra sin tratar. Sin embargo, con los tratamientos de UHPH se redujo ~ 6 log. El tratamiento convencional de homogenización-pasteurización no presentó un efecto significativo en la destrucción de esporas en comparación a las muestras de nata sin tratamiento. Sin embargo, con el tratamiento UHPH no se detectaron esporas, lográndose reducir ~ 2 log. Los tratamientos de homogenización-pasteurización y de UHPH fueron completamente efectivos en la reducción de *Enterobacteriaceae* en las natas, mostrando los tratamientos UHPH presentan una efectividad similar a los de pasteurización en la eliminación de microorganismos integrantes de este grupo microbiano.

Con el tratamiento UHPH se logró reducir el diámetro de los glóbulos de grasa produciendo una distribución de partícula bimodal con un pico principal de ~ 0,4 µm, sin embargo, apareció la formación de agregados en un pico minoritario a ~ 2 µm. Estos agregados podrían haberse formado por la falta de proteína en la nata, que resultó ser

insuficiente para cubrir los nuevos glóbulos de grasa formados por el tratamiento UHPH, promoviendo así la floculación. Sin embargo, la adición de 1,5% de caseinato de sodio a la nata antes del tratamiento UHPH fue suficiente para cubrir la superficie de los nuevos glóbulos de grasa formados, estabilizándolos y previniendo la formación de agregados o flóculos, reduciendo el tamaño de partícula de estas natas hasta $\sim 0,3 \mu\text{m}$.

Por esta razón, el principal objetivo de este estudio fue utilizar la nata tratada por UHPH como ingrediente en la leche de fabricación quesera en comparación a las natas obtenidas por procesos de homogeneización y/o pasteurización tradicionalmente utilizados en la obtención de este producto, para así poder seleccionar los tratamientos más adecuados para su aplicación en la elaboración de quesos reducidos en grasa.

4.2. Materiales y métodos

Para cumplir con el objetivo previamente descrito se elaboraron 4 tipos de natas ligeras: nata pasteurizada (NP), nata homogenizada-pasteurizada a 15 MPa, 65 °C por 30 min (NPH), nata tratada por UHPH a 300 MPa con $T_i = 40 \text{ °C}$ (NUH) y nata adicionada de 1,5% de caseinato de sodio y tratada por UHPH a 300 MPa, $T_i = 40 \text{ °C}$ (NUHC). Estas natas (NP, NPH, NUH y NUHC) fueron añadidas a leche desnatada pasteurizada obteniendo 4 tipos de leches de quesería al 1,5% de grasa (LP, LPH, LUH y LUHC, respectivamente). Se determinaron los efectos de los tratamientos tecnológicos aplicados sobre las propiedades de coagulación de las leches de quesería (1,5% grasa) obtenidas por adición de las natas anteriormente citadas, rendimiento quesero potencial de las leches, y microestructura de los geles obtenidos, según se detalla en la sección de Plan de Trabajo (Figura 2.1) y aplicando las técnicas analíticas descritas en la sección general de Materiales y Métodos (subsección 3.4).

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Propiedades de coagulación

Los estudios de coagulación enzimática realizados con los diferentes parámetros que definen las propiedades de coagulación de las leches se presentan en la Tabla 4.1. Las leches añadidas de NPH (LPH) presentaron valores más bajos de la velocidad de agregación (RCF) y de la firmeza del gel tanto a los 45 como a los 60 min (CF45 y CF60), en comparación a la leche adicionada de nata pasteurizada (LP).

Tabla 4.1. Propiedades de coagulación de las leches de quesería adicionadas de natas con diferentes tratamientos.

Parámetros de coagulación ¹	Leches ²			
	LP	LPH	LUH	LUHC
RCF (mA/min)	0,37 ^a ± 0,05	0,28 ^b ± 0,04	0,30 ^b ± 0,02	0,28 ^b ± 0,03
CF45 (mA)	7,19 ^a ± 0,78	4,86 ^c ± 0,73	5,34 ^{bc} ± 0,36	5,76 ^b ± 0,35
CF60 (mA)	9,22 ^a ± 1,15	6,74 ^b ± 0,92	7,05 ^b ± 0,44	7,47 ^b ± 0,41

^{a-c} Promedios ± desviación estándar, los valores con superíndices desiguales para cada parámetro de coagulación indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹ RCF: velocidad de agregación micelar; CF45: firmeza del gel a 45 min; CF60: firmeza del gel a 60 min.

² LP: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C, 30 min); LPH: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogeneizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C, 30 min); LUH: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (UHPH, 300 MPa, Ti = 40 °C); LUHC: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por UHPH (300 MPa, Ti = 40 °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

Green *et al.* (1983) y Emmons *et al.* (1980) observaron una menor firmeza en geles obtenidos a partir de leche homogeneizada en comparación a las muestras de leche sin homogeneizar. Zamora *et al.* (2007) también observaron geles más débiles elaborados a partir de leche homogeneizada-pasteurizada y fue atribuido a una mayor dispersión de grasa en el gel.

Las leches añadidas de natas tratadas por UHPH también presentaron menores valores de RCF y CF en relación a la LP, presentando valores similares entre ellas (LUH y LUHC) para estos parámetros de coagulación. Así, la adición de 1,5% de caseinato de sodio no produjo ninguna diferencia significativa en los parámetros de coagulación estudiados. Sin embargo, y en comparación a la LPH la LUHC presentó una CF a los 45 min que fue significativamente ($P < 0,05$) mayor, diferencia que desapareció a los 60 min de iniciada la coagulación. Por otro lado, se esperaba que los geles producidos a partir de natas tratadas por UHPH presentasen una mayor firmeza debido a que incluyen más partículas formadoras de estructura disponibles para unir y crear un gel más rígido (Thomann *et al.*, 2008). Los estudios realizados por microscopía confocal y electrónica han mostrado que los pequeños nuevos glóbulos grasos formados por tratamiento de la leche entera por UHPH son de naturaleza lipoproteica (Zamora *et al.*, 2007) y podrían quedar atrapados en el gel y/o formando parte de la red proteica tridimensional, rompiendo la continuidad de su estructura y actuando como centros ablandadores del gel formado, lo que podría

explicar en el presente estudio la formación de geles más blandos, como se podrá ver más adelante (ver sección 4.3.3).

4.3.2. Rendimiento quesero potencial de las leches

La reducción de grasa en la leche de fabricación quesera disminuyó el rendimiento potencial quesero en un ~ 23% comparando una leche entera (LE, 3,2% grasa) que también se incluyó en este estudio, y la leche pasteurizada con 1,5% de materia grasa (LP, Tabla 4.2). En la literatura se describe que el rendimiento quesero está influenciado por el porcentaje de grasa de la leche, observándose mayor rendimiento con el aumento de la grasa en la leche (Gilles y Lawrence, 1985; Fenelon y Guinee, 2000). La homogeneización de la grasa de la leche con 1,5% de grasa provocó un incremento del rendimiento de las cuajadas bajas en grasa en comparación a la no homogeneizada (LP), y así las LPH presentaron un rendimiento del ~ 5% superior a la LP. Metzger y Mistry (1994) observaron incrementos en el rendimiento de quesos Cheddar reducidos en grasa mediante la adición de nata homogenizada, atribuyéndolo a una menor pérdida de grasa y proteína en el suero de quesería. De la misma forma, las muestras de LUH presentaron un rendimiento ~ 13% superior a LP, debido a una mayor reducción del tamaño del glóbulo de grasa integrándolo en la red proteica del gel y evitando su pérdida en el suero de quesería. Este rendimiento fue mayor con la adición de 1,5% de caseinato de sodio, incrementándose hasta un ~ 22% con respecto al LP, asemejándose ($P < 0,05$) al rendimiento quesero potencial de la LE.

Estos resultados podrían explicarse en base a la inclusión del caseinato de sodio en la red tridimensional del gel produciendo una microestructura más compacta, que pudo inhibir el drenaje del suero de la matriz proteica, aumentando así el rendimiento del gel elaborado a partir de LUHC. Lobato-Calleros *et al.* (2000) y Nateghi *et al.* (2012) observaron incrementos de rendimiento con la adición de caseinato de sodio en queso fresco y Cheddar reducidos en grasa, respectivamente. Por otra parte, la adición de caseinato de sodio a la nata sometida a un tratamiento de UHPH hace que se creen partículas de naturaleza lipoproteica de menor tamaño que actúan como verdaderas partículas proteicas interviniendo en la formación de la red tridimensional del gel que retendría mejor, no solo la grasa al formar parte de las partículas evitando que se pierdan en el suero de quesería, sino también el agua del gel, incrementando así la capacidad de retención del gel y el rendimiento quesero.

Tabla 4.2. Rendimiento potencial quesero de muestras de leche entera, pasteurizada, homogenizada-pasteurizada y homogeneizada a ultra-alta presión.

Leches ¹	Rendimiento potencial quesero (%)
LE	16,80 ^a ± 1,74
LP	12,98 ^c ± 1,76
LPH	14,41 ^b ± 1,62
LUH	14,71 ^b ± 1,54
LUHC	16,63 ^a ± 1,68

^{a-c} Promedios ± desviación estándar, los valores con superíndices desiguales indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

¹ LE: leche al 3,2% de grasa; LP: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C, 30 min); LPH: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogeneizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C, 30 min); LUH: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogeneizada por ultra-alta presión (UHPH, 300 MPa, Ti = 40 °C); LUHC: leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por UHPH (300 MPa, Ti = 40 °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

4.3.3. Microestructura de los geles mediante microscopia láser confocal

Los resultados de las observaciones realizadas por microscopía laser confocal permitieron observar la distribución de la matriz proteica (Figura 4.1-1), las diferencias del tamaño de los glóbulos grasos (Figura 4.1-2), así como su distribución dentro de la matriz (Figura 4.1-3) de los geles producidos a partir de las diferentes leches del estudio.

Los geles obtenidos a partir de la LE (Figura 4.1-A) presentaron una matriz proteica con una estructura porosa, un elevado número de glóbulos grasos de gran tamaño que se hallaron distribuidos por toda la matriz, dando lugar a una estructura de aspecto esponjoso.

Los geles enzimáticos reducidos en grasa elaborados a partir de LP (Figura 4.1-B) presentaron menor cantidad de glóbulos grasos (Figura 4.1-B2) respecto a los elaborados con leche entera (Figura 4.1-A2), resultando en una matriz proteica discontinua con ramificaciones finas y débiles (verde más fluorescente) y espacios intersticiales u oquedades poco definidos donde se sitúa el suero (color verde oscuro debido a la presencia de la proteína del suero) (Figura 4.1-B1), donde quedan atrapados los glóbulos grasos (Figura 4.1-B3). Los geles reducidos en grasa elaborados a partir de LPH presentaron una mayor cantidad de glóbulos grasos de menor tamaño (Figura 4.1-C2) en comparación a los elaborados con nata pasteurizada (Figura 4.1-B2), y una mayor integración de los nuevos pequeños glóbulos grasos producidos por el tratamiento de homogeneización convencional en la red proteica (Figura 4.1-C2 y 3) que presentó una

estructura continua con ramificaciones gruesas y espacios intersticiales definidos donde queda atrapado el suero (Figura 4.1-C1). Estos resultados se corresponden con el estudio de la distribución del tamaño de partícula en nata pasteurizada y homogenizada, en el que se logró reducir el diámetro de los glóbulos de grasa de $\sim 3,8 \mu\text{m}$ a $< 1 \mu\text{m}$, respectivamente (Rodarte *et al.*, 2018).

La incorporación de los nuevos pequeños glóbulos grasos a la red proteica explicaría los valores de firmeza menores obtenidos por medida óptica (Optigraph) en comparación a los geles de LP.

El tratamiento de la nata por UHPH generó una mayor reducción del tamaño de los glóbulos grasos en comparación con la homogenización-pasteurización convencional, produciendo una alta asociación de los nuevos pequeños glóbulos formados con la red proteica, haciendo que la estructura del gel fuese más continua y compacta (Figura 4.1-D y E) en relación a la obtenida en el gel elaborado a partir de LPH (Figura 4.1-C), no observándose grandes diferencias entre las micrografías pertenecientes a la visualización de la red proteica, fase grasa y la superposición de ambas (Figura 4.1-D y E). En la micrografía 3D de la Figura 4.1 aparecen un número pequeño de partículas rojas que corresponden a glóbulos grasos, indicando la formación de pequeños agregados lipídicos debido a la falta de proteína suficiente para cubrir todos los nuevos glóbulos formados tras el tratamiento UHPH, produciendo así su floculación. Estos resultados concuerdan con lo encontrado en la distribución de tamaño de partícula de la nata UHPH, en la cual se observaron partículas con un diámetro de $\sim 0,4 \mu\text{m}$ y $2 \mu\text{m}$, correspondiéndose al tamaño de los nuevos glóbulos grasos y los agregados o flóculos, respectivamente (Rodarte *et al.*, 2018). Sin embargo, la adición de 1,5% de caseinato de sodio a la nata tratada por UHPH produjo geles con los glóbulos completamente asociados a la matriz proteica (Figura 4.1-E2), sin observarse agregados o flóculos de glóbulos grasos, confirmando que la cantidad añadida de proteína cubrió suficientemente la superficie de los glóbulos grasos, estabilizándolos y previniendo su agregación. Sin embargo, la microestructura general del gel enzimático obtenido a partir de LUH y LUHC cambió considerablemente en comparación a los obtenidos con la LPH, pasando de una microestructura con ramificaciones gruesas y espacios intersticiales definidos donde queda atrapado el suero en el caso de los geles obtenidos con LPH, a una microestructura más compacta a base de agregados más o menos esféricos de naturaleza lipoproteica y de diferentes tamaños conectados entre ellos, y rodeados de canales intersticiales donde queda atrapado el suero (Figura 4.1-D y E).

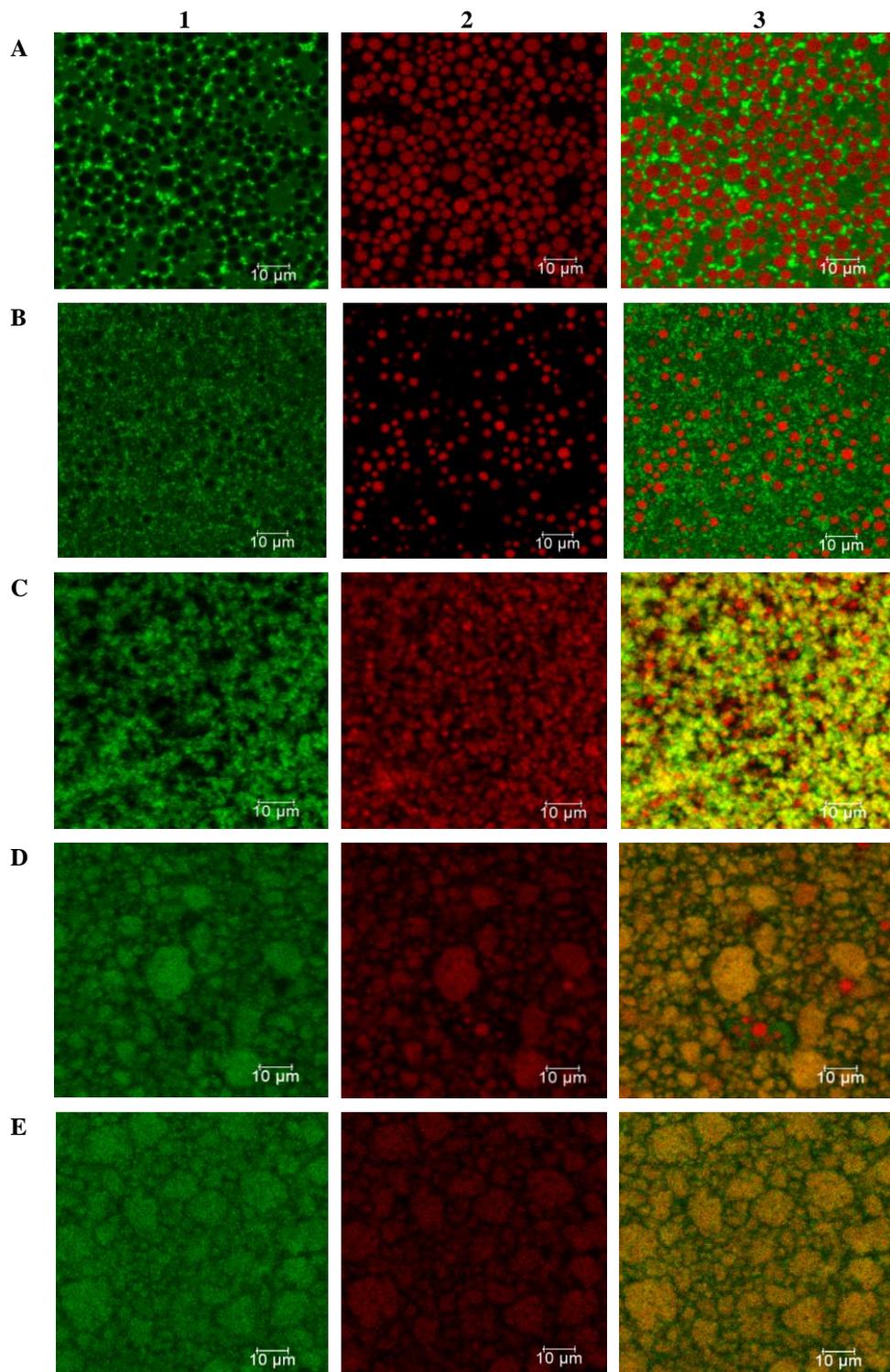


Figura 4.1. Micrografías obtenidas por microscopía laser confocal de los geles enzimáticos elaborados a partir de leche desnatada adicionada de nata tratada por diferentes tecnologías. **(A)** Leche entera al 3,2% de grasa; **(B)** leche al 1,5% de grasa obtenida por adición de nata pasteurizada (65 °C, 30 min); **(C)** leche al 1,5% de grasa obtenida por adición de nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C, 30 min); **(D)** leche al 1,5% de grasa obtenida por adición de nata homogeneizada a ultra-alta presión (UHPH, 300 MPa, Ti = 40 °C); **(E)** leche al 1,5% de grasa obtenida por adición de nata tratada por UHPH (300 MPa, Ti = 40 °C) en presencia de 1,5% de caseinato de sodio. Imágenes tridimensionales de los geles enzimáticos **1:** matriz proteica en verde, **2:** glóbulos de grasa en rojo y **3:** interacción proteína-grasa.

Esta microestructura a base de agregados lipoproteicos es especialmente visible, y se podría definir en “forma de mosaico” en el gel obtenido a partir de LUH adicionada de caseinato de sodio, siendo más finos los canales intersticiales presentes en este gel. Esta microestructura más compacta a base de agregados lipoproteicos delimitados por estrechos canalículos de suero podría explicar el elevado rendimiento potencial quesero de esta leche al retener en la red tridimensional del gel la mayoría de sus componentes incluida también gran parte del agua constitutiva de la leche. Por otra parte, la microestructura más compacta de los geles de LUHC también explicaría las firmezas mayores ($P < 0,05$) obtenidas en comparación a los geles de LPH a los 45 min de coagulación.

4.4. Conclusiones

El tratamiento de homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa y $T_i = 40\text{ }^\circ\text{C}$) de la nata adicionada a leche desnatada modificó de manera similar al tratamiento de homogeneización convencional las propiedades de coagulación enzimática de la leche, disminuyendo la velocidad de agregación micelar y la firmeza del gel, en comparación a la leche añadida de nata pasteurizada. Esta tecnología mejoró el rendimiento quesero potencial de las leches en comparación a los tratamientos de homogeneización convencional, alcanzando la leche (1,5% grasa) adicionada de nata tratada por UHPH en presencia de caseinato de sodio al 1,5% rendimientos similares a los obtenidos a partir de leche con un 3,2% de grasa. Estos resultados de mejora en el rendimiento quesero potencial podrían explicarse por la microestructura desarrollada en los geles enzimáticos producidos a partir de leche desnatada adicionada de nata tratada por UHPH en presencia de caseinato de sodio, produciendo una microestructura tipo mosaico a base de agregados lipoproteicos que incorporan y retienen la mayoría de los componentes de la leche de quesería.

4.5. Referencias

- Abismaïl, B., Canselier, J.P., Wilhelm, A.M., Delmas, H. & Gourdon, C. (2000). Emulsification processes: On-line study by multiple light scattering measurements. *Ultrasonics Sonochemistry*, **7**, 187-192.
- BOE. (1983). Órden del 12 de Julio de 1983. Normas generales de calidad para la nata y

- nata en polvo con destino al mercado interior. BOE, 172: 20196-20201. *Boletín Oficial del Estado*.
- Cano-Ruiz, M.E. & Richter, R.L. (1997). Effect of Homogenization Pressure on the Milk Fat Globule Membrane Proteins. *Journal of Dairy Science*, **80**, 2732-2739.
- Emmons, D.B., Kalab, M., Larmond, E. & Lowrie, R.J. (1980). Milk Gel Structure. X. Texture and Microstructure in Cheddar Cheese Made From Whole Milk and From Homogenized Low-Fat Milk. *Journal of Texture Studies*, **11**, 15-34.
- FAO/OMS. (2011). *Codex Alimentarius - Leche y Productos Lácteos. Norma del Codex para las natas (cremas) y las natas (cremas) preparadas. CODEX STAN 288-1976*. 2nd edn. Roma, Italia.
- Fenelon, M.A. & Guinee, T.P. (2000). Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal*, **10**, 151-158.
- Gilles, J. & Lawrence, R.C. (1985). The yield of cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, **20**, 205-214.
- Green, M.L., Marshall, R.J. & Glover, F. a. (1983). Influence of homogenization of concentrated milks on the structure and properties of rennet curds. *Journal of Dairy Research*, **50**, 341-348.
- Hoffmann, W. (2011). Cream. Manufacture. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (editado por J.W. Fuquay). Pp. 912-919. San Diego: Academic Press.
- Huppertz, T. & Kelly, A.L. (2006). Physical Chemistry of Milk Fat Globules. En: *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 173-212. Boston, MA: Springer US.
- Huppertz, T., Kelly, A.L. & Fox, P.F. (2009). Milk Lipids – Composition, Origin and Properties. En: *Dairy Fats and Related Products* (editado por A.Y. Tamime). Pp. 1-27. United Kingdom: Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Karaman, A.D. & Akalın, A.S. (2013). Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream. *LWT - Food Science and Technology*, **50**, 503-510.
- Liang, Y., Patel, H., Matia-Merino, L., Ye, A. & Golding, M. (2013). Structure and stability of heat-treated concentrated dairy-protein-stabilised oil-in-water emulsions: A stability mapcharacterisation approach. *Food Hydrocolloids*, **33**, 297-308.
- Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E.J. & Sanchez-Garcia, J. (2000). Viscoelastic properties of white fresh cheese filled with sodium caseinate.

- Journal of Texture Studies*, **31**, 379-390.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1994). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 1. Manufacture, Composition, and Yield. *Journal of Dairy Science*, **77**, 3506-3515.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1995). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 2. Microstructure, Fat Globule Distribution, and Free Oil. *Journal of Dairy Science*, **78**, 1883-1895.
- Nateghi, L., Roohinejad, S., Totosaous, A., Rahmani, A., Tajabadi, N., Meimandipour, A., Rasti, B. & Manap, M.Y.A. (2012). Physicochemical and textural properties of reduced fat Cheddar cheese formulated with xanthan gum and/or sodium caseinate as fat replacers. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, **10**, 59-63.
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2007). Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. *Journal of Dairy Science*, **90**, 1081-93.
- Poduval, V.S. & Mistry, V. V. (1999). Manufacture of Reduced Fat Mozzarella Cheese Using Ultrafiltered Sweet Buttermilk and Homogenized Cream. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1-9.
- Rodarte, D., Zamora, A., Trujillo, A.J. & Juan, B. (2018). Effect of ultra-high pressure homogenization on cream: Shelf life and physicochemical characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, **92**, 108-115.
- Thomann, S., Schenkel, P. & Hinrichs, J. (2008). The impact of homogenization and microfiltration on rennet-induced gel formation. *Journal of Texture Studies*, **39**, 326-344.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. & Geurts, T.J. (2006). *Dairy Science and Technology*. 2nd edn. Boca Raton: CRC Press LLC. Taylor & Francis Group.
- Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P.D., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2007). Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on the Cheese-Making Properties of Milk. *Journal of Dairy Science*, **90**, 13-23.
- Zamora, A., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012). Ultra-high pressure homogenisation of milk: technological aspects of cheese-making and microbial shelf life of a starter-free fresh cheese. *Journal of Dairy Research*, **79**, 168-175.

Capítulo 5

Capítulo 5. EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA-ALTA PRESIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y SENSORIALES DE QUESOS FRESCOS REDUCIDOS EN GRASA

5.1. Introducción

El queso fresco es un alimento muy nutritivo con una composición muy parecida a la leche, destacándose las proteínas de alto valor biológico, el calcio, el fósforo y algunas vitaminas. Sin embargo, los quesos frescos también contienen grasas en un intervalo de 18 a 29% (Hwang y Gunasekaran, 2001) siendo los ácidos grasos saturados los predominantes en la grasa láctea, cuyo exceso afecta negativamente la salud del consumidor por su relación estrecha con las enfermedades cardiovasculares. Así, en las poblaciones occidentales y otros lugares, existe una creciente demanda de productos lácteos reducidos en grasa, incluyendo los quesos (Banks, 2004), debido a las crecientes tasas de obesidad, aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, presión arterial elevada, y enfermedades de lesión de los tejidos asociados con la oxidación de lípidos (Katsiari *et al.*, 2002).

El Codex Alimentario (FAO/WHO, 2011) ha establecido denominaciones para los quesos en función al contenido de grasa expresada en materia: con toda la grasa (superior o igual al 45% e inferior al 60%), semigraso (superior o igual al 25% e inferior al 45%) y parcialmente desnatado (superior o igual al 10% e inferior al 25%). Sin embargo, cada país establece su propia normatividad interna, como es el caso de los Estados Unidos donde un queso reducido en grasa requiere al menos una reducción del 25% del nivel de grasa, respecto a una variedad de referencia (Mistry, 2001). En Europa, el queso puede ser etiquetado como reducido en grasa, si la reducción del contenido de grasa es de, como mínimo, el 30% en comparación con un producto similar (Reglamento CE 1924, 2006). Desafortunadamente, la reducción de la grasa en los quesos suele producir deficiencias de textura, aroma y sabor (Sipahioglu *et al.*, 1999), siendo menos apetecibles y de bajo rendimiento (Rodríguez, 1998) que los quesos elaborados con leche entera. Estos efectos indeseables pueden ser corregidos mediante tres estrategias principales: la modificación de las tecnologías de fabricación de queso, el uso de cultivos adjuntos y sustitutos de grasa (Drake y Swanson, 1995). Dentro del uso de nuevas tecnologías de fabricación quesera se ha usado la homogenización de la leche. Esto conlleva la reducción del tamaño de los glóbulos grasos nativos que se encuentran mayormente entre 1 y 10 μm , hasta tamaños por debajo de 1 μm (Hayes y Kelly, 2003), y por lo tanto, la superficie de los

glóbulos de grasa se incrementan entre 5 a 10 veces (Keenan *et al.*, 1983). Los quesos resultantes del proceso de homogenización de la leche presentan modificaciones en la red de proteína, alterando negativamente su estructura básica (Nair *et al.*, 2000). Estos hallazgos encontrados por diferentes autores han conducido al concepto de homogenización selectiva, donde se homogeniza solamente la fracción grasa (Karaman y Akalin, 2013). Se han realizado estudios sobre la homogenización de la nata como una herramienta de proceso para la mejora de quesos Cheddar (Metzger y Mistry, 1994), Mozzarella (Rudan *et al.*, 1998; Poduval y Mistry, 1999), queso blanco Iraní (Madadlou *et al.*, 2007) y Turco (Karaman y Akalin, 2013) reducidos y bajos en grasa. Esta tecnología fue utilizada principalmente para incrementar el rendimiento y la velocidad de hidrólisis de los lípidos (Rudan *et al.*, 1998; Madadlou *et al.*, 2007) permitiendo reducir las pérdidas de grasa en el lactosuero (Metzger y Mistry, 1994; Rudan *et al.*, 1998; Nair *et al.*, 2000; Karaman y Akalin, 2013), aunque las pérdidas de proteína fueron mayores (Karaman *et al.*, 2012), evidenciándose así ciertas deficiencias de este tratamiento.

La homogenización a ultra alta presión (UHPH) es un tratamiento no térmico que se basa en los mismos principios que la homogenización convencional. Esta tecnología cuenta con una diferente geometría de la cámara de reacción y puede alcanzar presiones de 10 a 15 veces superior a los homogeneizadores clásicos (Paquin, 1999). Actualmente, las válvulas de los equipos de homogeneización a alta y ultra alta presión han sido modificados introduciendo asientos y agujas construidos en cerámica o revestidos de diamante artificial, y modificando sus geometrías (Dumay *et al.*, 2013). Cuando el fluido pasa por la válvula, éste es sometido a fenómenos de cizalla, cavitación, esfuerzo de corte y turbulencia (Paquin, 1999; Flourey *et al.*, 2004a,b) produciendo así un calentamiento del fluido homogeneizado (Flourey *et al.*, 2000; Hayes y Kelly, 2003; Thiebaud *et al.*, 2003), el cual es reducido rápidamente por un equipo de enfriamiento colocado justo después de la válvula. Sus principales efectos son la reducción del tamaño de partícula, la estabilización de emulsiones, la mejora de la extracción de metabolitos y la inactivación de microorganismos y enzimas hasta niveles similares o superiores al tratamiento térmico de pasteurización (Dumay *et al.*, 2013), con una reducción concomitante de la carga microbiana (Hayes y Kelly, 2003; Thiebaud *et al.*, 2003). Se han realizado diferentes estudios de la aplicación de la UHPH en la leche de fabricación quesera como tratamiento alternativo para la elaboración de quesos frescos (Escobar *et al.*, 2011; Zamora *et al.*, 2011, 2012b). Esta tecnología resultó útil en esta aplicación ya que produce incremento de la humedad y del rendimiento de los quesos, así como la mejora de las propiedades

sensoriales (Escobar *et al.*, 2011), reduciendo la sinéresis durante el almacenamiento y mejorando la calidad microbiológica de los quesos (Zamora *et al.*, 2011, 2012b). La mejora de las propiedades de fabricación de queso a partir de leche tratada por UHPH se atribuye a los cambios en las proteínas y grasa debido al efecto combinado de calor y homogeneización (Zamora *et al.*, 2007).

En el presente estudio, se pretende utilizar la UHPH para disminuir el tamaño de los glóbulos grasos de la grasa de la leche, e introducirla como ingrediente conjuntamente con leche desnatada en la elaboración de quesos reducidos en grasa. El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de incorporación de la nata tratada por UHPH en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de los quesos frescos reducidos en grasa, en comparación con natas tratadas mediante homogeneización convencional y sin homogeneizar.

5.2. Materiales y métodos

Para cumplir con el objetivo previamente descrito se elaboraron 5 tipos de leches de quesería: 2 leches pasteurizadas (LE y LP con 3,2% y 1,5% de grasa, respectivamente), leche homogeneizada-pasteurizada (LPH), y 2 leches tratadas por UHPH (LUH y LUHC). Para la elaboración de quesos reducidos se utilizaron leches estandarizadas al 1,5% de grasa, las cuales se obtuvieron mezclando las distintas natas ligeras (20% de grasa) con leche desnatada. Para comparar los quesos reducidos en grasa se elaboraron quesos control a partir de leche entera pasteurizada y estandarizada al 3,2% de grasa. Se fabricaron 5 tipos diferentes de quesos frescos a partir de las leches antes descritas: queso elaborado con LE (QEf), queso reducido en grasa elaborado con LP (QPf), queso reducido en grasa elaborado con LPH (QPHf), queso reducido en grasa elaborado con LUH (QUHf), y queso reducido en grasa elaborado LUHC (QUHCf). Se determinaron los efectos de los tratamientos tecnológicos aplicados sobre las características fisicoquímicas (composición, lipólisis, oxidación lipídica, compuestos volátiles, color y textura), microbiológicas (recuentos totales, esporas, *Enterobacteriaceae*, y psicrótrofos), y sensoriales, de los quesos anteriormente citados, según se detalla en la sección de Plan de Trabajo (Figura 2.2) y aplicando las técnicas analíticas descritas en la sección general de Materiales y Métodos (subsecciones 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.9, 3.10 y 3.11).

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Análisis fisicoquímico

La composición de los quesos frescos entero y reducidos en grasa se muestra en la Tabla 5.1. Los tratamientos realizados a la nata no variaron el pH de los quesos mostrando valores de 6,50 a 6,67. Estos valores de pH fueron similares a los obtenidos por Medina *et al.* (1992), Hernando (1998) y Zamora *et al.* (2012b) en quesos frescos.

Los quesos reducidos en grasa presentaron mayor humedad y proteína que los quesos enteros, aunque la cantidad de proteína en los quesos elaborados a partir de nata tratada por UHPH no fue significativamente mayor. Se han descrito resultados similares para queso Feta bajo en grasa (Katsiari y Voutsinas, 1994) y para queso fresco Kashar (Koca y Metin, 2004). Este aumento puede atribuirse a la mayor relación de caseína/grasa presente en las leches estandarizadas que se manifiestan en los quesos reducidos en grasa, tal como lo describieron Sundar y Upadhyay (1990). Por otro lado, el incremento de proteína contribuiría al incremento de la humedad, debido a la capacidad de retención de agua que ésta presenta (Katsiari y Voutsinas, 1994). Durante el almacenamiento la humedad disminuyó en todos los quesos debido al drenaje del suero en el propio envase, observándose una menor pérdida de agua en QUHCf, el cual mostró el mayor contenido de humedad al séptimo día de almacenamiento. La poca reducción de este valor, probablemente fue debido a la gran capacidad de retención de agua del caseinato de sodio. Similar comportamiento obtuvo Lobato-Calleros *et al.* (2000) en quesos frescos con la adición de caseinato desde 0,3 a 1,4% a la leche de producción quesera.

El porcentaje de grasa promedio en los quesos enteros y reducidos en grasa fue de 13,50 y 6,94%, respectivamente, cumpliendo con la denominación de quesos enteros y reducidos en grasa (Reglamento CE 1924, 2006).

5.3.2. Análisis microbiológico

La calidad microbiológica de los quesos frescos entero y reducidos en grasa se muestra en la Tabla 5.2. En general, no se observaron diferencias estadísticas en los recuentos microbianos entre los quesos, mostrando valores inferiores a ~ 5 log cfu/g durante el almacenamiento de 7 días. Al día 1 de almacenamiento todos los quesos presentaron un recuento de ~ 3 log cfu/g de bacterias totales. Estos valores se corresponden con los de enterobacterias y psicrótrofos, siendo estos últimos ligeramente menores. Estos valores se incrementaron ~ 1 log cfu/g a los 7 días de almacenamiento. No se detectaron esporas a lo largo de los días de ensayo en ninguno de los quesos evaluados.

Tabla 5.1. Resultados de la composición fisicoquímica de quesos frescos a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.

	Día	Quesos ¹				
		QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
pH	1	6,67 ^{Aa} ± 0,26	6,50 ^{Aa} ± 0,23	6,65 ^{Aa} ± 0,32	6,67 ^{Aa} ± 0,31	6,67 ^{Aa} ± 0,30
	7	6,60 ^{Aa} ± 0,22	6,52 ^{Aa} ± 0,41	6,57 ^{Aa} ± 0,24	6,57 ^{Aa} ± 0,25	6,54 ^{Aa} ± 0,28
Humedad (g/100 g queso)	1	69,69 ^{Ab} ± 1,89	72,91 ^{Aa} ± 2,10	71,72 ^{Aa} ± 1,38	72,72 ^{Aa} ± 1,24	72,85 ^{Aa} ± 1,43
	7	67,12 ^{Bc} ± 0,85	70,15 ^{Bb} ± 1,22	69,80 ^{Bb} ± 1,84	70,01 ^{Bb} ± 1,22	71,82 ^{Ba} ± 0,78
Proteína (g/100 g queso)	1	14,09 ^{Ab} ± 1,90	17,92 ^{Aa} ± 3,80	17,93 ^{Aa} ± 3,02	16,15 ^{Aab} ± 2,34	15,67 ^{Aab} ± 3,09
	7	14,92 ^{Ab} ± 1,20	18,49 ^{Aa} ± 1,54	18,68 ^{Aa} ± 3,41	17,81 ^{Aa} ± 1,81	15,56 ^{Ab} ± 2,71
Grasa (g/100 g queso)	1	12,81 ^{Aa} ± 1,33	6,50 ^{Ab} ± 0,85	6,69 ^{Ab} ± 0,65	7,00 ^{Ab} ± 0,60	6,56 ^{Ab} ± 0,56
	7	14,19 ^{Aa} ± 1,51	7,13 ^{Ab} ± 0,83	7,31 ^{Ab} ± 0,92	7,35 ^{Ab} ± 1,16	7,02 ^{Ab} ± 0,68
Relación agua/proteína	1	4,9	4,1	4,0	4,5	4,7
	7	4,5	3,8	3,7	3,9	4,6
Relación proteína/grasa	1	1,0	2,7	2,6	2,2	2,2
	7	1,1	2,6	2,6	2,3	2,4

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c, d) indican diferencias entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B) indican diferencias entre los días de almacenamiento (P < 0,05).

¹QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C).

Tabla 5.2. Recuento microbiológico (log cfu/g) de los quesos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.

Grupo microbiano	Día	Quesos ¹				
		QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
Bacterias totales	1	3,59 ± 0,78	3,71 ± 0,86	3,67 ± 1,30	3,67 ± 0,92	3,71 ± 0,88
	7	4,45 ± 1,05	4,56 ± 1,09	4,29 ± 1,15	4,50 ± 1,12	4,50 ± 1,20
Esporas	1	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
	7	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<i>Enterobacteriaceae</i>	1	3,26 ± 0,53	3,29 ± 0,64	3,75 ± 0,91	3,38 ^B ± 0,60	3,48 ± 0,81
	7	4,25 ± 1,04	4,19 ± 0,94	4,23 ± 0,78	4,37 ^A ± 0,84	4,38 ± 0,86
Psicrótrofos	1	2,94 ± 1,03	2,87 ± 0,86	3,02 ± 0,91	2,92 ± 0,98	3,06 ± 1,09
	7	4,01 ± 0,90	3,80 ± 0,94	3,85 ± 0,83	3,49 ± 0,49	4,10 ± 1,09

Nd: No detectado (por debajo el límite de detección).

¹QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C).

Los criterios microbiológicos para el queso fresco vigentes en la Unión Europea, y por lo tanto en España, se rigen por el Reglamento CE 2073 (2005) de la Unión Europea. Sin embargo, este reglamento establece límites para estafilococos coagulasa positivo y sus enterotoxinas, y para *Escherichia coli*, pero no establece límites microbianos para los grupos microbianos determinados en este estudio. Es por ello, que se tuvo en consideración normativas antiguas como la Directiva 92/46/CEE (1992) de la Unión Europea para queso fresco, en donde se establecen límites microbianos para coliformes en quesos frescos ($n = 5$, $m = 4 \log \text{cfu/g}$, $M = 5 \log \text{cfu/g}$ y $c = 2$), donde n es el número de unidades de la muestra; m es el límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable; M es el máximo número de bacterias; c es número de unidades de muestra cuyo contenido en bacterias puede estar entre m y M . Por lo tanto, nuestros resultados (Tabla 5.2) se ubican por debajo de las recomendaciones higiénico sanitarias máximas ($5 \log \text{cfu/mL}$) y siendo considerados como aceptables.

5.3.3. Lipólisis

La lipólisis, o hidrólisis de los lípidos, es un fenómeno causado por la enzima lipasa (origen endógena o microbiana) que hidroliza a los triacilgliceroles, el mayor componente de la grasa de la leche. Los productos de esta hidrólisis son los ácidos grasos libres (AGL) y los mono- y diacilgliceroles. La mayor actividad lipolítica en la leche bovina proviene de las lipasas naturales de la leche, tales como la lipoproteín lipasa (LPL), o por lipasas microbianas de bacterias psicrótroficas. Otra familia de las enzimas lipolíticas que pueden afectar a la leche y los productos lácteos son las fosfolipasas. Éstas hidrolizan a los fosfolípidos, que constituyen una parte importante de la membrana del glóbulo de grasa (MFGM), y provocan su desestabilización. En general, los defectos del flavor generado por la lipólisis se relacionan con la rancidez hidrolítica (Deeth, 2002, 2006).

Los resultados del perfil de AGL de los quesos frescos se muestra en la Tabla 5.3. En general, la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera disminuyó significativamente el contenido total de AGL. Los niveles de AGL de cadena corta, media y larga en el QPf disminuyeron significativamente en comparación al QEf, destacando los ácidos palmítico (C16:0) y mirístico (C14:0), respectivamente. Varios autores (Banks *et al.*, 1989; Dimos *et al.*, 1996) también han descrito disminuciones del nivel de AGL en quesos reducidos en grasa y atribuido principalmente a la reducción del contenido de grasa de la leche.

Tabla 5.3. Abundancia de ácidos grasos libres (AGL) de los quesos entero y reducidos en grasa.

AGL	Día	Quesos ¹				
		QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
C4:0	1	3,73 ^{Aa} ± 0,32	3,29 ^{Ab} ± 0,22	3,59 ^{Aa} ± 0,15	3,08 ^{Abc} ± 0,13	3,01 ^{Bc} ± 0,26
	7	3,62 ^{Aa} ± 0,24	3,44 ^{Aa} ± 0,13	3,61 ^{Aa} ± 0,42	3,16 ^{Ab} ± 0,09	3,45 ^{Aa} ± 0,31
C6:0	1	0,79 ^{Ba} ± 0,16	0,70 ^{Aa} ± 0,11	0,76 ^{Ba} ± 0,03	0,74 ^{Aa} ± 0,26	0,52 ^{Bb} ± 0,05
	7	1,12 ^{Aa} ± 0,08	0,68 ^{Ab} ± 0,12	1,05 ^{Aa} ± 0,05	0,60 ^{Ab} ± 0,10	0,67 ^{Ab} ± 0,05
C8:0	1	1,60 ^{Aa} ± 0,11	1,34 ^{Abc} ± 0,05	1,45 ^{Aab} ± 0,25	1,26 ^{Ac} ± 0,21	1,21 ^{Ac} ± 0,15
	7	1,55 ^{Aa} ± 0,15	1,15 ^{Bc} ± 0,08	1,30 ^{Ab} ± 0,08	1,06 ^{Bc} ± 0,13	1,14 ^{Ac} ± 0,07
<i>Sub total CC</i>	1	6,12 ^{Aa} ± 0,54	5,33 ^{Ab} ± 0,32	5,80 ^{Aa} ± 0,14	5,08 ^{Abc} ± 0,47	4,73 ^{Bc} ± 0,46
	7	6,28 ^{Aa} ± 0,20	5,27 ^{Ab} ± 0,13	5,96 ^{Aa} ± 0,48	4,82 ^{Ac} ± 0,27	5,26 ^{Ab} ± 0,41
C10:0	1	1,61 ^{Aa} ± 0,72	0,50 ^{Bb} ± 0,20	0,63 ^{Bb} ± 0,13	0,51 ^{Ab} ± 0,06	0,39 ^{Bb} ± 0,04
	7	2,05 ^{Aa} ± 0,28	0,71 ^{Ac} ± 0,08	1,01 ^{Ab} ± 0,11	0,56 ^{Ac} ± 0,08	0,57 ^{Ac} ± 0,15
C12:0	1	3,24 ^{Ba} ± 1,11	0,98 ^{Bb} ± 0,27	1,19 ^{Bb} ± 0,13	1,14 ^{Ab} ± 0,12	0,79 ^{Bb} ± 0,07
	7	4,49 ^{Aa} ± 0,55	1,34 ^{Ac} ± 0,31	1,82 ^{Ab} ± 0,14	1,08 ^{Ac} ± 0,23	1,02 ^{Ac} ± 0,22
C14:0	1	7,51 ^{Ba} ± 2,17	1,89 ^{Bcd} ± 0,36	3,75 ^{Ab} ± 0,54	2,45 ^{Ac} ± 0,12	1,27 ^{Bd} ± 0,15
	7	10,01 ^{Aa} ± 1,38	3,01 ^{Ac} ± 0,90	4,08 ^{Ab} ± 0,09	2,26 ^{Ac} ± 0,27	1,93 ^{Ad} ± 0,37
<i>Sub total CM</i>	1	12,36 ^{Ba} ± 3,99	3,37 ^{Bc} ± 0,83	5,57 ^{Bb} ± 0,78	4,10 ^{Abc} ± 0,08	2,45 ^{Bc} ± 0,19
	7	16,55 ^{Aa} ± 2,15	5,06 ^{Ac} ± 1,27	6,91 ^{Ab} ± 0,21	3,91 ^{Ac} ± 0,57	3,52 ^{Ad} ± 0,74

Tabla 5.3. (Continuación).

AGL	Día	Quesos ¹				
		QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
C16:0	1	23,94 ^{Ba} ± 0,66	11,80 ^{Ad} ± 2,24	20,38 ^{Ab} ± 1,62	14,65 ^{Ac} ± 1,02	9,01 ^{Be} ± 0,23
	7	34,99 ^{Aa} ± 1,64	15,11 ^{Ac} ± 3,91	19,61 ^{Ab} ± 0,75	13,83 ^{AcD} ± 0,47	11,98 ^{Ad} ± 0,14
C18:0	1	5,74 ^{Ba} ± 0,54	3,41 ^{Bb} ± 0,73	3,95 ^{Bb} ± 0,82	3,37 ^{Bb} ± 0,62	2,19 ^{Bc} ± 0,53
	7	8,60 ^{Aa} ± 1,53	4,62 ^{Abc} ± 0,62	5,21 ^{Ab} ± 0,39	4,39 ^{Abc} ± 0,42	3,88 ^{Ad} ± 0,82
C18:1	1	13,70 ^{Ba} ± 1,53	4,60 ^{Bb} ± 0,78	5,71 ^{Ab} ± 2,15	4,86 ^{Ab} ± 1,29	4,37 ^{Ab} ± 0,97
	7	15,66 ^{Aa} ± 1,28	5,90 ^{Abc} ± 0,56	6,41 ^{Ab} ± 0,81	4,85 ^{Ac} ± 1,30	5,01 ^{Ac} ± 1,48
C18:2	1	2,04 ^{Ba} ± 0,72	1,52 ^{Bb} ± 0,60	1,89 ^{Bab} ± 0,18	2,19 ^{Ba} ± 0,19	2,22 ^{Ba} ± 0,25
	7	3,61 ^{Aab} ± 1,05	3,73 ^{Aa} ± 1,48	2,53 ^{Ab} ± 0,77	2,66 ^{Aab} ± 0,58	3,50 ^{Aab} ± 0,95
<i>Sub total CL</i>	<i>1</i>	<i>45,41^{Ba} ± 2,41</i>	<i>21,33^{Bd} ± 2,84</i>	<i>31,92^{Ab} ± 4,40</i>	<i>25,07^{Ac} ± 0,65</i>	<i>17,79^{Be} ± 1,39</i>
	<i>7</i>	<i>62,86^{Aa} ± 5,30</i>	<i>29,36^{Ac} ± 3,12</i>	<i>33,76^{Ab} ± 1,55</i>	<i>25,73^{Ad} ± 1,97</i>	<i>24,37^{Ad} ± 3,21</i>
Total, AGL	1	63,89^{Ba} ± 6,79	30,03^{Bc} ± 3,94	43,29^{Ab} ± 5,29	34,25^{Ac} ± 0,73	24,97^{Bd} ± 1,85
	7	85,70^{Aa} ± 3,45	39,69^{Ac} ± 4,45	46,62^{Ab} ± 2,20	34,45^{Ad} ± 2,26	33,15^{Ad} ± 3,54

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c, d) indican diferencias entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B) indican diferencias entre los días de almacenamiento (P < 0,05).

¹QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C).

Los caracteres en cursiva se usan para cantidades de subtotales de ácidos grasos libres de cadena corta (CC), media (CM) y larga (CL), y en negrita para la cantidad total de ácidos grasos libres.

En general, el tratamiento de homogenización convencional y pasteurización de la nata incrementó el nivel de AGL totales (Tabla 5.3). Los niveles de AGL de cadena corta, media y larga en QPHf fueron significativamente mayores en comparación a QPf, destacándose el ácido palmítico (C16:0) seguido del mirístico (C14:0). Es conocido que la LPL natural de la leche es inactivada por tratamientos de pasteurización HTST (Deeth, 2006). Sin embargo, la inactivación varía según la severidad del tratamiento térmico. Andrews *et al.* (1987) reportaron un 2% de actividad residual de la LPL con un tratamiento de 70 °C durante 15 s. Por otro lado, Driessen (1989) logró inactivar completamente la LPL con un tratamiento de 78 °C durante 10 s. Por lo tanto, el incremento de la actividad lipolítica en QPHf podría atribuirse a la presencia de LPL residual en la leche tras el proceso de pasteurización, que al mezclarse con la nata tratada por homogenización convencional, vería incrementada su acción. Hayes y Kelly (2003) también observaron incrementos en la actividad lipolítica de muestras de leche tratada por homogenización (18-200 MPa) y atribuida principalmente a la insuficiente inactivación de la LPL por los tratamientos de homogenización, observándose una disminución del pH de las muestras de leche después de 24 h de almacenamiento a 4°C. Cabe señalar que la homogenización de la leche reduce el tamaño del glóbulo graso, daña la MFGM y provoca cambios en su composición (Zamora *et al.*, 2012a). La MFGM actúa como un agente emulsificante natural, previene la coalescencia de los glóbulos grasos y protege a los glóbulos de grasa de la degradación enzimática (Singh, 2006), por lo tanto, el aumento de la superficie del glóbulo de grasa por técnicas de homogeneización proporciona una mayor interfase lípido-suero para la actividad de la lipasa acelerando los fenómenos lipolíticos (Collins *et al.*, 2003) que en el caso del queso fresco son negativos por desarrollo de sabores y olores indeseables. Por otro lado, la LPL hidroliza preferencialmente las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos de cadena larga que están relacionados con los altos niveles de AGL C16:0, C18:0 y C18:1 (Pereda *et al.*, 2008). Al día 1 de almacenamiento, el tratamiento UHPH de la nata no produjo cambios en el contenido total de AGL totales en QUHf respecto a QPf (Tabla 5.3). La similitud en el contenido de AGL totales en QUHf y QPf al día 1 de almacenamiento puede ser explicado por la temperatura alcanzada durante el tratamiento UHPH de la nata en la válvula de homogeneización. Pereda *et al.* (2008) y Escobar *et al.* (2011) describieron incrementos de temperatura de ~100 y ~80 °C, respectivamente, en muestras de leche tratada por UHPH a 300 MPa, temperaturas capaces de inactivar la LPL.

En general, la adición de 1,5% de caseinato de sodio en la nata tratada por UHPH redujo significativamente el contenido de AGL (Tabla 5.3). La disminución del contenido de AGL en las muestras de QUHCf puede ser debido a que las superficies de los nuevos glóbulos de grasa se recubrieron completamente por la proteína añadida (ver capítulo 4, apartado 4.2.3) y no presentaron fenómenos de agregación, obteniéndose un queso reducido en grasa con menor actividad lipolítica en comparación a los demás quesos.

En general, con el tiempo de almacenamiento, se incrementó la cantidad de AGL totales en QEf, QPF y QUHCf, mientras que en QPHf y QUHf no se observaron diferencias. Si bien la LPL se inactiva completamente por los tratamientos de pasteurización HTST y UHPH aplicados en este estudio, las lipasas de las bacterias psicrótroficas son muy termorresistentes, quedando activas incluso a tratamientos UHT (Deeth, 2006), lo que podría explicar el incremento de la cantidad de AGL totales durante el periodo de almacenamiento de los quesos. Por otra parte, las diferencias entre los tratamientos podrían explicarse, por el catabolismo de los AGL en otros compuestos tales como metilcetonas, alcoholes secundarios, lactonas (Deeth y Fitz-Gerald, 2006) aldehídos y alcoholes derivados (Collins *et al.*, 2003).

5.3.4. Oxidación lipídica

La oxidación lipídica es la mayor causa del deterioro de alimentos ricos en grasa durante el almacenamiento. Los hidroperóxidos son productos de la oxidación primaria y son incoloros, insípidos e inodoros (Fenaille *et al.*, 2001). La descomposición de los hidroperóxidos por calentamiento, radiación, presencia de metales u otros agentes iniciadores de radicales producen compuestos, tales como, los aldehídos, cetonas, alcoholes, hidrocarburos y ácidos orgánicos volátiles (Hoffmann y Taylor, 1989).

Estos compuestos son productos de la oxidación secundaria y se caracterizan por impartir un mal sabor, pérdida de nutrientes y limitan la vida útil de los alimentos (Esterbauer, 1993). La cuantificación de la peroxidación lipídica primaria (hidroperóxidos) es difícil debido a la naturaleza inestable y reactiva de estos compuestos. Por lo tanto, la evaluación de la peroxidación de lípidos generalmente se realiza mediante el análisis de los productos de la oxidación secundaria, como el malondialdehído (MDA). La condensación de MDA con dos moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) se ha utilizado ampliamente para medir el grado de deterioro oxidativo de los lípidos en los sistemas biológicos y alimentarios (Fenaille *et al.*, 2001). En la Tabla 5.4 se puede observar la oxidación secundaria por análisis de TBARs de los quesos elaborados.

Tabla 5.4. Oxidación secundaria analizada por TBARs de los quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.

Quesos ¹	TBARs (mg MDA/kg queso)	
	1	7
QEf	1,26 ^b ± 0,01	1,27 ^b ± 0,02
QPf	1,25 ^b ± 0,01	1,25 ^c ± 0,01
QPHf	1,29 ^a ± 0,02	1,28 ^b ± 0,01
QUHf	1,30 ^a ± 0,01	1,30 ^a ± 0,01
QUHCf	1,26 ^b ± 0,01	1,26 ^{bc} ± 0,02

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma columna (a, b, c) indican diferencias entre tipos de quesos ($P < 0,05$).

¹QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C).

En general, todos los quesos presentaron valores de TBARs muy bajos y similares, aunque se observaron pequeñas diferencias entre ellos. Los QPf presentaron valores de TBARs muy similares en comparación a los QEf. En los quesos reducidos en grasa, la homogenización de la nata incrementó la oxidación de lípidos en los QPHf y QUHf, pero no en el QUHCf que presentó valores de TBARS similares a los quesos adicionados de nata pasteurizada. Zamora *et al.* (2015) también observaron mayores niveles de hexanal en muestras de quesos fresco elaborados a partir de leche tratada por UHPH (300 MPa, Ti = 40 °C) y por homogenización-pasteurización. Asimismo, Pereda *et al.* (2008) reportaron mayores niveles de TBARs en muestras de leche tratada por UHPH (300 MPa, Ti = 40 °C) en comparación a las muestras de leche tratadas por pasteurización (90 °C, 15 s), resultados que fueron atribuidos a la formación de agregados de grasa después del tratamiento UHPH. En nuestro estudio, los tratamientos de homogenización de la nata lograron reducir el tamaño de los glóbulos de grasa, pero también formaron agregados de partículas después del tratamiento por falta de recubrimiento proteico, que resultó ser insuficiente para cubrir los nuevos glóbulos formados (ver capítulo 4, apartado 4.2.3). Asimismo, la mayor concentración de TBARs en los QUHf al día 1 y 7 de almacenamiento, también podrían explicarse por la transferencia de la proteína xantina

oxidasa (presente en la MFMG y principal responsable de la oxidación) a la fase acuosa, tras la ruptura de la MFMG por el tratamiento UHPH de la nata (O'Brien y O'Connor, 2002).

La adición de 1,5% de caseinato de sodio a la nata UHPH redujo la oxidación lipídica en el QUHCf, siendo similar a los quesos producidos a partir de nata sin homogenizar (QPf y QEf). Esta disminución posiblemente es debida a que la superficie de los nuevos glóbulos de grasa en las natas adicionadas de caseinato sódico y tratadas por UHPH se recubrieron completamente por la proteína añadida (ver capítulo 4, apartado 4.2.3), y no presentaron fenómenos de agregación.

5.3.5. Compuestos volátiles

El análisis de los perfiles cromatográficos permitió identificar un total de 27 compuestos en las muestras de queso fresco analizadas durante el almacenamiento a 4 °C. En la Tabla 5.5 se muestran los compuestos volátiles totales agrupados por familia química (alcoholes, terpenos, cetonas, ésteres, ácidos, aldehídos e hidrocarburos aromáticos) para los cinco tipos de quesos.

Se identificaron un total de siete alcoholes en la fracción volátil de las muestras de queso analizadas (Tabla 5.5). En general, la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera disminuyó el contenido total de alcoholes, excepto los quesos elaborados mediante nata tratada por homogenización, observándose los valores de alcoholes más elevados en los quesos QPH tanto al día 1 como 7 de almacenamiento. Sin embargo, los quesos elaborados a partir de nata tratada por UHPH no presentaron ninguna diferencia en el contenido total de alcoholes en comparación a QPf, siendo los quesos con menor abundancia de esta familia de compuestos. Estos resultados podrían atribuirse a la menor cantidad de alcoholes detectados en estos quesos, los cuales no presentaron 1,3-dicloro-2-propanol ni 3-metil-butanol. Este último compuesto volátil es considerado como uno de los principales precursores del aroma de una amplia variedad de quesos, atribuyéndole ligeros aromas a fresco y dulce en varios quesos blandos (Law, 1982). En el caso de los QUHf y QUHCf tampoco se encontró 1-butanol, el cual imparte ciertos aromas a frutas en los quesos (Nogueira et al., 2005). El etanol fue el alcohol más abundante en los cinco tipos de quesos, el cual ha sido descrito como un componente importante del aroma en quesos Cheddar (Arora *et al.*, 1995) y Feta (Horwood *et al.*, 1981). Asimismo, el etanol puede actuar como precursor de etil-ésteres, que son compuestos volátiles relevantes en el aroma de los quesos (Molimard y Spinnler, 1996).

Tabla 5.5. Abundancia de compuestos volátiles (área de pico $\times 10^5$) detectados en la fracción volátil de quesos frescos a 1 y 7 días de almacenamiento.

	TR ¹	Día	Quesos ²				
			QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
<i>Alcoholes</i>							
Etanol	13,83	1	1,07 ^{Bab} \pm 0,20	0,68 ^{Bc} \pm 0,13	1,12 ^{Ba} \pm 0,21	0,84 ^{Bbc} \pm 0,11	1,01 ^{Bab} \pm 0,17
		7	25,08 ^{Aa} \pm 3,87	16,72 ^{Ab} \pm 1,61	27,33 ^{Aa} \pm 4,25	23,07 ^{Aab} \pm 5,30	25,34 ^{Aa} \pm 6,13
1-butanol	21,20	1	Nd ^{Bc}	0,72 ^{Ba} \pm 0,14	0,50 ^{Bb} \pm 0,10	Nd ^{Ac}	Nd ^{Ac}
		7	0,60 ^{Ab} \pm 0,14	0,95 ^{Aa} \pm 0,12	0,98 ^{Aa} \pm 0,15	Nd ^{Ac}	Nd ^{Ac}
1,3-dicloro-2-propanol	22,20	1	Nd ^{Bb}	Nd ^{Ab}	3,15 ^{Ba} \pm 0,56	Nd ^{Ab}	Nd ^{Ab}
		7	3,49 ^{Ab} \pm 0,56	Nd ^{Ac}	6,27 ^{Aa} \pm 1,06	Nd ^{Ac}	Nd ^{Ac}
3-metil-butanol	23,11	1	0,83 ^{Bb} \pm 0,14	Nd ^{Ac}	2,82 ^{Ba} \pm 0,52	Nd ^{Ac}	Nd ^{Ac}
		7	5,13 ^{Ab} \pm 0,85	Nd ^{Ac}	8,17 ^{Aa} \pm 1,02	Nd ^{Ac}	Nd ^{Ac}
1-pentanol	24,18	1	0,66 ^{Ba} \pm 0,07	0,37 ^{Bc} \pm 0,07	0,52 ^{Bb} \pm 0,05	0,58 ^{Bab} \pm 0,10	0,70 ^{Ba} \pm 0,14
		7	2,20 ^{Aa} \pm 0,38	2,64 ^{Aa} \pm 0,51	0,90 ^{Ac} \pm 0,15	0,99 ^{Ac} \pm 0,11	1,56 ^{Ab} \pm 0,45
2-hexadecanol	27,20	1	0,79 ^{Bb} \pm 0,09	Nd ^{Bd}	1,00 ^{Ba} \pm 0,10	0,28 ^{Bc} \pm 0,20	Nd ^{Bd}
		7	1,46 ^{Ac} \pm 0,24	3,69 ^{Ab} \pm 0,75	2,32 ^{Ac} \pm 0,39	7,13 ^{Aa} \pm 1,23	1,57 ^{Ac} \pm 0,32
2,3-butanediol	34,10	1	0,55 ^{Bab} \pm 0,10	0,50 ^{Bb} \pm 0,10	0,52 ^{Bb} \pm 0,09	0,71 ^{Ba} \pm 0,16	0,59 ^{Bab} \pm 0,13
		7	1,42 ^{Adc} \pm 0,25	2,47 ^{Aa} \pm 0,26	1,15 ^{Ad} \pm 0,23	1,69 ^{Abc} \pm 0,36	2,04 ^{Aab} \pm 0,41
<i>Subtotales Alcoholes</i>		1	3,88 ^{Bb} \pm 0,08	2,25 ^{Bc} \pm 0,15	9,60 ^{Ba} \pm 1,00	2,40 ^{Bc} \pm 0,50	2,30 ^{Bc} \pm 0,23
		7	39,37 ^{Aab} \pm 5,42	26,45 ^{Ac} \pm 2,24	47,09 ^{Aa} \pm 4,20	32,86 ^{Abc} \pm 6,81	30,49 ^{Ac} \pm 6,23
<i>Terpenos</i>							
Limoneno	22,80	1	2,42 ^{Bb} \pm 0,19	2,95 ^{Bb} \pm 0,67	5,18 ^{Ba} \pm 1,17	2,12 ^{Bb} \pm 0,43	0,43 ^{Bc} \pm 0,12
		7	5,73 ^{Ab} \pm 0,38	5,02 ^{Ab} \pm 0,79	11,65 ^{Aa} \pm 2,33	6,84 ^{Ab} \pm 1,06	10,25 ^{Aa} \pm 2,15
<i>Subtotal Terpenos</i>		1	2,42 ^{Bb} \pm 0,19	2,95 ^{Bb} \pm 0,67	5,18 ^{Ba} \pm 1,17	2,12 ^{Bb} \pm 0,43	0,43 ^{Bc} \pm 0,12
		7	5,73 ^{Ab} \pm 0,38	5,02 ^{Ab} \pm 0,79	11,65 ^{Aa} \pm 2,33	6,84 ^{Ab} \pm 1,06	10,25 ^{Aa} \pm 2,15

Tabla 5.5. (Continuación).

	TR ¹	Día	Quesos ²				
			QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
<i>Cetonas</i>							
Propanona	10,70	1	2,82 ^{Aa} ± 0,48	2,35 ^{Bab} ± 0,37	1,57 ^{Bd} ± 0,18	2,10 ^{Bbc} ± 0,17	1,72 ^{Bcd} ± 0,37
		7	3,37 ^{Ab} ± 0,65	4,57 ^{Aa} ± 0,81	3,17 ^{Ab} ± 0,56	4,70 ^{Aa} ± 0,76	3,16 ^{Ab} ± 0,51
2,3-pentanediona	18,01	1	1,59 ^{Ba} ± 0,25	1,56 ^{Aab} ± 0,22	0,67 ^{Bc} ± 0,16	1,66 ^{Ba} ± 0,13	1,27 ^{Ab} ± 0,23
		7	4,18 ^{Aa} ± 0,91	1,25 ^{Ac} ± 0,23	2,10 ^{Ab} ± 0,43	2,80 ^{Ab} ± 0,62	0,88 ^{Ac} ± 0,11
2-heptanona	22,37	1	4,23 ^{Bb} ± 0,81	4,82 ^{Bab} ± 0,88	4,94 ^{Bab} ± 1,04	5,83 ^{Ba} ± 0,59	4,09 ^{Bb} ± 0,85
		7	6,88 ^{Ac} ± 1,29	12,00 ^{Aa} ± 1,25	11,82 ^{Aa} ± 1,59	10,63 ^{Aab} ± 1,78	8,80 ^{Abc} ± 1,93
3-hydroxi-2-butanona	25,80	1	2,25 ^{Ba} ± 0,48	Nd ^{Bc}	Nd ^{Bc}	0,84 ^{Bb} ± 0,13	Nd ^{Bc}
		7	10,64 ^{Aa} ± 2,20	3,20 ^{Ac} ± 0,60	6,47 ^{Ab} ± 0,83	3,51 ^{Ac} ± 0,53	10,64 ^{Aa} ± 2,33
2-nonanona	28,64	1	0,28 ^{Bb} ± 0,04	0,33 ^{Bb} ± 0,06	1,11 ^{Aa} ± 0,13	0,35 ^{Bb} ± 0,05	Nd ^{Bc}
		7	0,54 ^{Ac} ± 0,11	1,71 ^{Aab} ± 0,20	1,38 ^{Ab} ± 0,33	1,92 ^{Aa} ± 0,43	0,44 ^{Ac} ± 0,06
<i>Subtotales Cetonas</i>		1	11,16 ^{Ba} ± 1,46	9,05 ^{Bb} ± 1,21	8,27 ^{Bbc} ± 0,96	10,76 ^{Ba} ± 0,52	7,08 ^{Bc} ± 0,95
		7	25,60 ^{Aa} ± 4,61	22,71 ^{Aa} ± 2,00	24,92 ^{Aa} ± 1,83	23,54 ^{Aa} ± 2,42	23,9 ^{Aa} ± 4,34
<i>Esteres</i>							
Acetato de etilo	12,49	1	4,07 ^{Ba} ± 0,80	4,06 ^{Ba} ± 0,62	2,97 ^{Bb} ± 0,59	3,20 ^{Bab} ± 0,49	2,87 ^{Bb} ± 0,29
		7	10,67 ^{Abc} ± 1,56	8,21 ^{Ac} ± 1,00	13,97 ^{Aab} ± 3,10	12,93 ^{Aab} ± 2,41	16,24 ^{Aa} ± 3,81
<i>Subtotales Esteres</i>		1	4,07 ^{Ba} ± 0,80	4,06 ^{Ba} ± 0,62	2,97 ^{Bb} ± 0,59	3,20 ^{Bab} ± 0,49	2,87 ^{Bb} ± 0,29
		7	10,67 ^{Abc} ± 1,56	8,21 ^{Ac} ± 1,00	13,97 ^{Aab} ± 3,10	12,93 ^{Aab} ± 2,41	16,24 ^{Aa} ± 3,81

Tabla 5.5. (Continuación).

	TR ¹	Día	Quesos ²				
			QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
<i>Ácidos</i>							
Ácido acético	30,11	1	0,81 ^{Ba} ± 0,17	0,77 ^{Ba} ± 0,16	0,91 ^{Ba} ± 0,22	0,67 ^{Bab} ± 0,11	0,50 ^{Bb} ± 0,11
		7	3,33 ^{Ab} ± 0,83	4,18 ^{Ab} ± 0,55	3,51 ^{Ab} ± 0,69	4,22 ^{Ab} ± 0,95	7,29 ^{Aa} ± 1,36
Ácido butanoico	34,62	1	0,47 ^{Ba} ± 0,10	0,50 ^{Ba} ± 0,13	0,59 ^{Ba} ± 0,14	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}
		7	0,99 ^{Ab} ± 0,23	1,74 ^{Ab} ± 0,20	1,52 ^{Ab} ± 0,39	1,44 ^{Ab} ± 0,31	1,49 ^{Ab} ± 0,32
Ácido butanoico, 3-metil	35,64	1	0,43 ^{Abc} ± 0,12	0,61 ^{Bab} ± 0,14	0,59 ^{Bab} ± 0,16	0,41 ^{Bc} ± 0,11	0,64 ^{Ba} ± 0,11
		7	0,47 ^{Aa} ± 0,13	2,71 ^{Aa} ± 0,64	2,47 ^{Aa} ± 0,60	2,15 ^{Ab} ± 0,37	1,45 ^{Ab} ± 0,27
Ácido hexanoico	39,71	1	0,30 ^{Bb} ± 0,08	0,35 ^{Bb} ± 0,08	0,64 ^{Ba} ± 0,14	Nd ^{Bc}	Nd ^{Bc}
		7	2,18 ^{Aa} ± 0,30	0,55 ^{Ac} ± 0,15	2,55 ^{Aa} ± 0,54	1,34 ^{Ab} ± 0,18	2,06 ^{Aa} ± 0,45
Ácido octanoico	44,73	1	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}	0,34 ^{Ba} ± 0,06	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}
		7	4,59 ^{Aa} ± 0,97	0,55 ^{Ac} ± 0,14	2,57 ^{Ab} ± 0,51	1,92 ^{Ab} ± 0,39	2,35 ^{Ab} ± 0,28
<i>Subtotales Ácidos</i>		1	2,00 ^{Bb} ± 0,32	2,21 ^{Bb} ± 0,22	3,05 ^{Ba} ± 0,24	1,08 ^{Bc} ± 0,17	1,13 ^{Bc} ± 0,21
		7	11,55 ^{Abc} ± 1,03	9,71 ^{Ac} ± 0,65	12,60 ^{Ab} ± 2,14	11,06 ^{Abc} ± 1,27	14,63 ^{Aa} ± 1,50
<i>Aldehídos</i>							
3-metil butanal	13,45	1	Nd ^{Ab}	Nd ^{Bb}	0,99 ^{Ba} ± 0,14	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}
		7	Nd ^{Ac}	2,79 ^{Ab} ± 0,40	4,98 ^{Aa} ± 0,78	3,23 ^{Ab} ± 0,62	5,90 ^{Aa} ± 1,07
Benzaldehído	32,79	1	0,55 ^{Bc} ± 0,16	1,55 ^{Ba} ± 0,41	0,56 ^{Bc} ± 0,09	1,09 ^{Bb} ± 0,21	1,23 ^{Bab} ± 0,32
		7	2,59 ^{Ac} ± 0,45	3,57 ^{Ab} ± 0,53	3,43 ^{Abc} ± 0,74	4,50 ^{Aa} ± 0,91	1,83 ^{Ad} ± 0,19
<i>Subtotales Aldehídos</i>		1	0,55 ^{Bc} ± 0,16	1,55 ^{Ba} ± 0,41	1,55 ^{Ba} ± 0,20	1,09 ^{Bb} ± 0,21	1,23 ^{Bab} ± 0,32
		7	2,59 ^{Ac} ± 0,45	6,35 ^{Ab} ± 0,71	8,41 ^{Aa} ± 0,59	7,72 ^{Aa} ± 1,24	7,73 ^{Aa} ± 0,93

Tabla 5.5. (Continuación).

	TR ¹	Día	Quesos ²				
			QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
<i>Hidrocarburos aromáticos</i>							
Etilbenceno	20,27	1	Nd ^{Bc}	1,98 ^{Bb} ± 0,27	1,84 ^{Bb} ± 0,29	4,72 ^{Ba} ± 0,77	2,23 ^{Bb} ± 0,61
		7	4,93 ^{Ab} ± 1,09	7,85 ^{Aa} ± 0,71	4,76 ^{Ab} ± 0,79	7,34 ^{Aa} ± 1,19	7,75 ^{Aa} ± 0,75
O-xileno	22,50	1	Nd ^{Bb}	5,13 ^{Aa} ± 1,25	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}	Nd ^{Ab}
		7	1,22 ^{Ad} ± 0,21	6,22 ^{Aa} ± 1,50	4,93 ^{Ab} ± 0,46	2,82 ^{Ac} ± 0,39	Nd ^{Ae}
Estireno	24,66	1	0,82 ^{Bb} ± 0,13	0,61 ^{Bbc} ± 0,17	2,35 ^{Ba} ± 0,42	Nd ^{Bd}	0,49 ^{Bc} ± 0,03
		7	1,82 ^{Ab} ± 0,39	2,47 ^{Ab} ± 0,51	3,17 ^{Aa} ± 0,69	1,87 ^{Ab} ± 0,25	2,07 ^{Ab} ± 0,35
1,2,4-trimetilbenceno	25,63	1	0,40 ^{Bc} ± 0,07	1,04 ^{Bb} ± 0,27	1,49 ^{Ba} ± 0,40	0,78 ^{Bb} ± 0,18	Nd ^{Bd}
		7	3,94 ^{Aa} ± 0,29	3,60 ^{Aa} ± 0,96	4,54 ^{Aa} ± 1,13	1,62 ^{Ab} ± 0,38	0,99 ^{Ab} ± 0,13
1,4-diclorobenceno	29,75	1	0,60 ^{Bb} ± 0,14	0,36 ^{Bc} ± 0,09	1,28 ^{Ba} ± 0,07	0,56 ^{Ab} ± 0,10	Nd ^{Bd}
		7	1,02 ^{Ab} ± 0,16	1,50 ^{Aa} ± 0,35	1,84 ^{Aa} ± 0,34	0,76 ^{Ab} ± 0,08	0,34 ^{Ac} ± 0,04
Benceno	31,69	1	Nd ^{Bb}	1,73 ^{Ba} ± 0,31	2,00 ^{Ba} ± 0,53	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}
		7	12,68 ^{Aa} ± 2,49	4,76 ^{Ab} ± 0,46	3,97 ^{Ab} ± 0,81	5,03 ^{Ab} ± 1,09	6,14 ^{Ab} ± 1,11
<i>Subtotales Hidrocarburos aromáticos</i>		1	6,74 ^{Bc} ± 1,16	10,83 ^{Ba} ± 1,49	8,95 ^{Bb} ± 0,84	6,05 ^{Bc} ± 0,61	2,72 ^{Bd} ± 0,59
		7	20,67 ^{Abc} ± 2,63	26,37 ^{Aa} ± 1,95	23,18 ^{Ab} ± 1,79	19,42 ^{Ac} ± 1,56	17,27 ^{Ad} ± 1,65
Total		1	30,80^{Bb} ± 3,26	32,89^{Bb} ± 3,50	39,56^{Ba} ± 2,37	26,69^{Bc} ± 0,72	17,74^{Bd} ± 0,19
		7	116,15^{Ab} ± 10,99	106,32^{Ab} ± 6,14	141,81^{Aa} ± 10,98	114,36^{Ab} ± 10,06	120,50^{Ab} ± 11,35

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c, d, e) indican diferencias entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B) indican diferencias entre los días de almacenamiento (P < 0,05). Nd: No detectado.

¹Tiempo de retención (min).

²QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C).

Los caracteres en cursiva se usan para cantidades de subtotales por familia química, y en negrita para la cantidad total de compuestos volátiles.

La reducción de grasa de la leche de fabricación quesera redujo los niveles de etanol, siendo el QP_f el que mostró los valores más bajos. Dimos *et al.* (1996) también reportaron bajos niveles de etanol en quesos Cheddar reducidos en grasa en comparación a quesos Cheddar enteros. Sin embargo, la adición de nata homogenizada o tratada por UHPH, incrementó sus niveles siendo iguales a los del queso elaborado con leche entera.

Sólo se detectó un único terpeno, el limoneno. A día 1 de almacenamiento, el queso elaborado con nata homogenizada, QPH_f, fue el que presentó mayor cantidad, y el QUHC_f el de menor. Sin embargo, a los 7 días de almacenamiento estos quesos incrementaron su abundancia, presentando valores similares a los anteriores, y mayores que el resto.

Se identificaron un total de cinco cetonas en la fracción volátil de las muestras de queso analizadas (Tabla 5.5). En general, la reducción de la grasa de la leche de fabricación quesera disminuyó el contenido total de cetonas al día 1 de almacenamiento, excepto en los quesos elaborados mediante nata tratada por homogenización a ultra-alta presión (QUH_f) que fueron similares al QE_f. Estos resultados se corresponden con la ausencia de 3-hidroxi-2-butanona en estos quesos a día 1. Sin embargo, este compuesto volátil sí fue detectado a los 7 días de almacenamiento, no habiendo diferencias significativas con el contenido total de cetonas entre los distintos quesos.

Sólo se detectó un éster, el acetato de etilo, el cual disminuyó a día 1 con la adición de nata homogenizada. Sin embargo, a los 7 días de almacenamiento, los QUHC_f elaborados con nata tratada por UHPH más la adición de caseinato, fueron los que presentaron mayor abundancia de este compuesto.

Del grupo de ácidos, cinco fueron detectados en los distintos quesos. Al día 1 de almacenamiento, los quesos con mayor cantidad de ácidos fueron los QPH, indicando que la adición de nata homogenizada a la leche de quesería provocaría un aumento de estos compuestos. De manera contraria, la adición de nata tratada por UHPH redujo su abundancia, siendo los quesos QUH_f y QUHC_f los que presentaron menor cantidad. No obstante, a los 7 días de almacenamiento, los quesos QUHC_f fueron los que tuvieron mayor abundancia del total de alcoholes, debido a su mayor cantidad de ácido acético, el cual fue el ácido mayoritario en todos los quesos.

Sólo dos aldehídos fueron detectados en los quesos frescos, siendo más abundantes en los quesos reducidos en grasa que en los quesos enteros.

Se identificaron un total de seis hidrocarburos aromáticos en la fracción volátil de las muestras de queso analizadas (Tabla 5.5). La reducción de la grasa de la leche de

fabricación quesera incrementó el contenido total de hidrocarburos aromáticos en QPf. Sin embargo, la homogenización de la nata redujo el contenido total de hidrocarburos aromáticos de los quesos reducidos en grasa, siendo más acusado en los quesos elaborados con nata UHPH adicionada de caseinato de sodio.

En general, la adición de nata homogenizada a la leche de quesería incrementa el perfil volátil de los quesos, incluso tratándose de quesos reducidos en grasa. No obstante, la adición de nata tratada por UHPH realiza el efecto contrario a día 1 de almacenamiento, dando lugar a quesos con menor abundancia total de compuestos volátiles, y debido a la no detección de alguno de ellos. Este efecto se revierte con el tiempo de almacenamiento, y a los 7 días en refrigeración no hay diferencia de abundancia entre los quesos enteros ni reducidos sin adición o con adición de nata tratada por UHPH. Sin embargo, los adicionados con nata tratada por homogenización convencional siguen siendo los que presentan mayor cantidad.

5.3.6. Análisis instrumental y sensorial

5.3.6.1. Color

Los resultados del análisis instrumental del color de los quesos del estudio se muestran en la Tabla 5.6. El color de un material en general, es el resultante de la dispersión y la absorción de la luz visible (Walstra *et al.*, 2006). En los quesos, la luz penetra en las capas superficiales y es dispersada por los glóbulos de grasa y el suero de la leche (Lemay *et al.*, 1994; Paulson *et al.*, 1998). Al día 1 de almacenamiento, el QUHCf presentó un ligero incremento en la luminosidad en comparación al resto de quesos, seguramente debido a la naturaleza blanqueante del caseinato de sodio (Modler, 1985). A los 7 días de almacenamiento los quesos elaborados a partir de nata UHPH presentaron mayor luminosidad que el QPf. Este incremento podría atribuirse al mayor número de glóbulos grasos de menor tamaño producidos por el tratamiento, aumentando así los centros de dispersión de luz. Sin embargo los quesos fabricados a partir de nata homogenizada-pasteurizada no incrementaron su luminosidad, posiblemente por la formación de una coalescencia parcial y agregación de los nuevos glóbulos de grasa como efecto de la homogenización de la nata en una sola fase (Walstra *et al.*, 2006).

Tabla 5.6. Medidas de color¹ instrumental de los quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.

Día	Quesos ²					
	QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf	
L*	1	94,68 ^{Ab} ± 0,24	94,69 ^{Ab} ± 0,29	94,55 ^{Ab} ± 0,35	94,74 ^{Ab} ± 0,41	94,93 ^{Aa} ± 0,32
	7	94,54 ^{Aa} ± 0,26	94,29 ^{Bb} ± 0,29	94,27 ^{Bb} ± 0,21	94,51 ^{Ba} ± 0,38	94,63 ^{Ba} ± 0,42
a*	1	0,32 ^{Ba} ± 0,09	-0,40 ^{Bc} ± 0,11	-0,25 ^{Bb} ± 0,18	-0,29 ^{Bb} ± 0,07	-0,35 ^{Bc} ± 0,08
	7	0,41 ^{Aa} ± 0,07	-0,27 ^{Ac} ± 0,05	-0,16 ^{Ab} ± 0,17	-0,11 ^{Ab} ± 0,10	-0,17 ^{Ab} ± 0,07
b*	1	11,95 ^{Ba} ± 0,54	10,96 ^{Bb} ± 0,43	10,99 ^{Ab} ± 0,51	10,40 ^{Ac} ± 0,46	10,25 ^{Ac} ± 0,67
	7	12,53 ^{Aa} ± 0,62	11,46 ^{Ab} ± 0,24	11,17 ^{Ac} ± 0,27	10,58 ^{Ad} ± 0,39	10,11 ^{Ae} ± 0,31
ΔE	1	-	1,22	1,12	1,66	1,84
	7	-	1,29	1,50	2,02	2,49

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c, d) indican diferencias entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B) indican diferencias entre los días de almacenamiento (P < 0,05).

¹L*: indica la luminosidad y oscila entre 0 y 100; a*: varía de verde (-) a rojo (+); b*: varía de azul (-) a amarillo (+) y ΔE: indica la diferencia total de color.

²QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogeneizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C).

La reducción de la grasa en la leche genera una pérdida de β -caroteno, responsable del color amarillo de la grasa. Los quesos reducidos en grasa presentaron menores valores de a^* y b^* que los quesos enteros, debido a la reducción de β -carotenos con el desnatado de la leche. Durante el almacenamiento los quesos tendieron hacia tonalidades más rojizas, presentando el mayor valor de a^* los QEf, seguidos por los elaborados con nata homogenizada. Respecto al valor de b^* , se observaron menores tonalidades amarillas en QUHf y QUHCf. Zamora *et al.* (2011) también observaron una disminución del valor de b^* en queso fresco elaborado con leche tratada por UHPH, en comparación con los elaborados con leche pasteurizada.

Durante el almacenamiento, el valor de b^* aumentó significativamente en QEf y QPf, sin embargo, no ocurrió con los quesos elaborados con nata homogenizada, presentando igualmente los menores valores los quesos elaborados con nata tratada por UHPH.

De acuerdo con los criterios de diferencia de color (ΔE) de Nedomová *et al.* (2017) los intervalos de 0,5-1,5 y 1,5-3,0 corresponden a una ligera y apreciable diferencia de color, respectivamente. En nuestro estudio, los quesos frescos reducidos en grasa, respecto al queso control (QEf), presentaron diferencias de color ligera para QPf y QPHf y apreciables para QUHf y QUHCf. Sin embargo, estas diferencias de color no fueron detectados por los panelistas (Figura 5.1).

5.3.6.2. Textura

5.3.6.2.1. Compresión uniaxial

La media de los valores obtenidos en el análisis de textura de los quesos utilizando el ensayo de compresión uniaxial se muestra en la Tabla 5.7. El valor de *fracture stress* indica la facilidad de fractura del queso, valores bajos indicando un queso más fácilmente fracturable. El valor de *fracture strain* indica la deformabilidad de los quesos, valores elevados indicando mayor deformación (Prentice *et al.*, 1993). La reducción de grasa de la leche incrementó los valores de *fracture stress* y *fracture strain* de los quesos, siendo el primero estadísticamente significativo al séptimo día de almacenamiento, dando lugar a quesos menos fracturables y más deformables. El incremento de estos dos valores en quesos reducidos en grasa fue descrito por Irigoyen *et al.* (2002) y Fenelon y Guinee (2000) en quesos Roncal y Cheddar respectivamente, y atribuido al incremento de proteína en los quesos.

Tabla 5.7. Resultados del análisis de textura por ensayo de compresión uniaxial de los quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.

	Día	Quesos ¹				
		QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
<i>Fracture stress</i> (N/cm ²)	1	0,88 ^{Bc} ± 0,16	0,90 ^{Bc} ± 0,15	1,17 ^{Bb} ± 0,19	1,34 ^{Ba} ± 0,21	1,10 ^{Bb} ± 0,20
	7	1,43 ^{Ac} ± 0,26	1,61 ^{Ab} ± 0,19	1,72 ^{Aab} ± 0,28	1,77 ^{Aa} ± 0,22	1,45 ^{Ac} ± 0,17
<i>Fracture strain</i> (-)	1	0,61 ^{Ab} ± 0,04	0,64 ^{Aa} ± 0,03	0,64 ^{Ba} ± 0,03	0,64 ^{Aa} ± 0,02	0,61 ^{Ab} ± 0,05
	7	0,63 ^{Ac} ± 0,05	0,65 ^{Ab} ± 0,02	0,67 ^{Aa} ± 0,02	0,64 ^{Ab} ± 0,04	0,62 ^{Ac} ± 0,05

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B) indican para cada parámetro diferencias entre los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

¹QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C).

La homogenización de la nata incrementó el valor de *fracture stress* en los quesos reducidos en grasa, siendo más acusado en QUHf que en QPHf. El tamaño de los glóbulos grasos interfiere físicamente con la integridad de la matriz, donde los glóbulos grandes disminuyen la firmeza del queso; por el contrario, glóbulos pequeños serán más difíciles de deformar, constituyendo una matriz más compacta (Everett y Auty, 2008). A menor tamaño de partícula, tal y como sucede con la homogenización por alta presión, mayor compactación de la matriz, y por consiguiente mayor valor de *fracture stress*. Contrariamente, Metzger y Mistry (1994) observaron una disminución de la fracturabilidad de los quesos mediante la homogenización de la nata, atribuido a la mayor humedad del producto. Sin embargo, Zamora *et al.* (2011) observaron incrementos de *fracture stress* en quesos elaborados con leche homogenizada y más aún con los elaborados con leche tratada por UHPH, comparado con los elaborados con leche pasteurizada, a pesar de tener mayor humedad que estos últimos. Parece ser que, en nuestro caso, la disminución del tamaño del glóbulo graso, prevaleció sobre el mayor contenido de humedad de los quesos.

Por otro lado, la homogenización de la nata no produjo diferencias de *fracture strain* al día 1, observándose un ligero incremento en QPHf al día 7.

La adición de caseinato de sodio a la nata tratada por UHPH, disminuyó los valores de *fracture stress* y *fracture strain*, siendo similares a los quesos de leche entera. Esta disminución podría ser debido al incremento de la relación agua/proteína (Tabla 5.1), como efecto de la alta capacidad de retención de agua del caseinato de sodio.

En general, durante el almacenamiento, el valor de *fracture stress* se incrementó en todos los quesos, debido al drenaje del suero, mientras que el *fracture strain* no se vio influenciado.

5.3.6.2.2. Análisis del perfil de textura (TPA)

La media de los valores del análisis de textura los quesos utilizando el ensayo de análisis de perfil de textura se muestra en la Tabla 5.8. En general, la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera incrementó la dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad del queso, observándose una disminución de la adhesividad. El incremento de dureza en quesos reducidos en grasa ha sido observada por varios autores (Bryant *et al.*, 1995; Gwartney *et al.*, 2002; Lteif *et al.*, 2009; Amelia *et al.*, 2013; Póltorak *et al.*, 2015) y atribuida principalmente al incremento de la proteína en la matriz del queso. El incremento de elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad mediante la

reducción de grasa también ha sido observada en quesos Cheddar (Bryant *et al.*, 1995), Halloumi (Lteif *et al.*, 2009) y diversos quesos comerciales (Gwartney *et al.*, 2002) debido a la menor cantidad de glóbulos grasos dispersos en la matriz proteica. Igualmente, fue descrita una menor adhesividad en quesos Cheddar y Halloumi mediante la reducción de grasa de la leche (Bryant *et al.*, 1995; Lteif *et al.*, 2009).

La homogenización de la nata incrementó la dureza, gomosidad, masticabilidad y adhesividad de los quesos reducidos en grasa. La mayor dureza del QUHf respecto a QPHf y QPf al día 7 de almacenamiento, se podría atribuir seguramente a la reducción del tamaño de los glóbulos de grasa obtenidos con los procesos de UHPH y homogenización convencional aplicados a la nata, generando una matriz proteica más compacta. También se han descrito incrementos en adhesividad en queso blanco Turco reducido en grasa con nata homogenizada (Karaman y Akalın, 2013). La elasticidad y cohesividad de los quesos prácticamente no se vieron afectadas. Metzger y Mistry, (1995) y Rudan *et al.* (1998) tampoco observaron modificaciones en la elasticidad de quesos Cheddar y Mozzarella bajos en grasa a partir de nata homogenizada, respectivamente. Tampoco hubieron cambios en la cohesividad de queso blanco Turco reducido en grasa mediante nata homogenizada (Karaman y Akalın, 2013).

La adición de 1,5% de caseinato de sodio en la nata tratada por UHPH redujo la dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad, e incrementó la adhesividad de los quesos, obteniéndose un queso con características similares a los quesos elaborados con leche entera. Este comportamiento puede ser debido al incremento de la relación agua/proteína observado en QUHCf (Tabla 5.1), como efecto de la alta capacidad de retención de agua del caseinato de sodio. Koca y Metin (2004) también obtuvieron disminuciones de dureza, gomosidad y masticabilidad en queso fresco Kashar reducido en grasa con el incremento de la relación agua/proteína en los quesos.

En general, con el tiempo de almacenamiento, se incrementó la dureza, gomosidad, masticabilidad y adhesividad de los quesos, mientras que la cohesividad disminuyó y la elasticidad no se vio influenciada. Estas variaciones del perfil de textura serían atribuidas al drenaje del suero durante el almacenamiento. Lobato-Calleros *et al.* (2008) también observaron incrementos de dureza y masticabilidad en quesos frescos reducidos en grasa, debido a la disminución del contenido de humedad de los quesos durante el almacenamiento, mientras que la elasticidad y cohesividad se mantuvieron constantes.

Tabla 5.8. Análisis de textura por el ensayo de perfil de textura de quesos frescos entero y reducidos en grasa a 1 y 7 días de almacenamiento a 4 °C.

Propiedad	Día	Quesos ¹				
		QEf	QPf	QPHf	QUHf	QUHCf
Dureza (N)	1	16,66 ^{Bb} ± 1,97	16,13 ^{Bb} ± 2,73	25,43 ^{Ba} ± 5,46	24,40 ^{Ba} ± 5,17	17,84 ^{Bb} ± 4,69
	7	21,80 ^{Ad} ± 4,03	25,97 ^{Ac} ± 3,23	31,45 ^{Ab} ± 5,79	34,45 ^{Aa} ± 3,09	22,49 ^{Ad} ± 3,86
Elasticidad (-)	1	0,61 ^{Ab} ± 0,09	0,68 ^{Aa} ± 0,11	0,67 ^{Aa} ± 0,09	0,69 ^{Aa} ± 0,11	0,60 ^{Ab} ± 0,09
	7	0,61 ^{Ab} ± 0,12	0,73 ^{Aa} ± 0,10	0,66 ^{Ab} ± 0,11	0,68 ^{Ab} ± 0,10	0,61 ^{Ab} ± 0,11
Cohesividad (-)	1	0,27 ^{Ab} ± 0,02	0,29 ^{Aa} ± 0,02	0,27 ^{Ab} ± 0,02	0,28 ^{Aab} ± 0,03	0,26 ^{Ac} ± 0,02
	7	0,23 ^{Bb} ± 0,03	0,26 ^{Ba} ± 0,04	0,26 ^{Ba} ± 0,03	0,26 ^{Ba} ± 0,02	0,24 ^{Bb} ± 0,04
Gomosidad (N)	1	4,48 ^{Ac} ± 0,51	4,92 ^{Bc} ± 1,07	6,82 ^{Ba} ± 1,67	6,91 ^{Ba} ± 1,78	5,70 ^{Ab} ± 1,67
	7	4,71 ^{Ac} ± 1,00	6,52 ^{Ab} ± 1,49	8,64 ^{Aa} ± 2,24	9,08 ^{Aa} ± 1,32	5,34 ^{Ac} ± 1,39
Masticabilidad (N)	1	2,71 ^{Ac} ± 0,40	3,12 ^{Bbc} ± 0,94	4,47 ^{Ba} ± 1,37	4,89 ^{Ba} ± 1,79	3,66 ^{Ab} ± 1,63
	7	3,05 ^{Ac} ± 1,21	4,70 ^{Ab} ± 1,63	5,83 ^{Aa} ± 1,94	6,23 ^{Aa} ± 1,15	3,32 ^{Ac} ± 1,20
Adhesividad (N × s)	1	0,06 ^{Bc} ± 0,02	0,03 ^{Bd} ± 0,02	0,05 ^{Bc} ± 0,03	0,08 ^{Ab} ± 0,04	0,10 ^{Aa} ± 0,04
	7	0,13 ^{Aa} ± 0,06	0,05 ^{Ac} ± 0,03	0,08 ^{Ab} ± 0,06	0,10 ^{Aab} ± 0,06	0,12 ^{Aa} ± 0,07

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B) indican para cada parámetro diferencias entre los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

¹QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C); QUHCf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C).

5.3.6.3. Análisis sensorial

Los análisis sensoriales de los quesos se realizaron utilizando como control a QP_f (queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada). Los valores obtenidos por los catadores de los atributos sensoriales de color, dureza, sensación acuosa y aroma se muestran en la Figura 5.1. Los panelistas no distinguieron diferencias a nivel estadístico de color ni aroma de los quesos, respecto al control, aunque los QUH_f y QUHC_f fueron valorados como más blancos, mientras que los QPH_f como más amarillos, observaciones que se corresponden con los resultados del color instrumental.

Los quesos reducidos en grasa fueron valorados como más duros que el queso entero, siendo QPH_f y QUH_f los valorados con mayor dureza. Estos resultados coinciden con las determinaciones realizadas de textura por ensayo del análisis de perfil de textura, donde los quesos QPH_f y QUH_f, presentaron mayor dureza al día 1, respecto al resto de quesos. La reducción de grasa en la leche de fabricación quesera disminuyó la sensación acuosa de los quesos. Sin embargo, el queso descrito con mayor sensación acuosa fue QUHC_f, mostrando una desviación notable respecto al control. Este aumento de la sensación acuosa en boca, probablemente fue debido a la acción del caseinato de sodio, el cual presenta una gran capacidad de retención de agua, correspondiéndose con la mayor humedad determinada en este queso (Tabla 5.1).

Los quesos preferidos por los catadores fueron QUHC_f y QEf, obteniendo el calificativo de “me gusta moderadamente” con una valoración de 7,2 y 6,8 puntos, respectivamente, siendo los comentarios de los panelistas para estos quesos de buen sabor, con sensación fresca y textura suave y homogénea. Por otro lado, los quesos QP_f (control) y QPH_f obtuvieron el calificativo de “me gusta ligeramente”, con una valoración de 6,4 y 5,9 puntos, respectivamente, describiendo los panelistas una textura granulosa en estos quesos. Finalmente, el QUH_f fue el menos valorado, con 5,3 puntos y obtuvo un calificativo de “ni me gusta, ni me disgusta”, describiendo los panelistas una textura muy firme y poco húmeda en este queso.

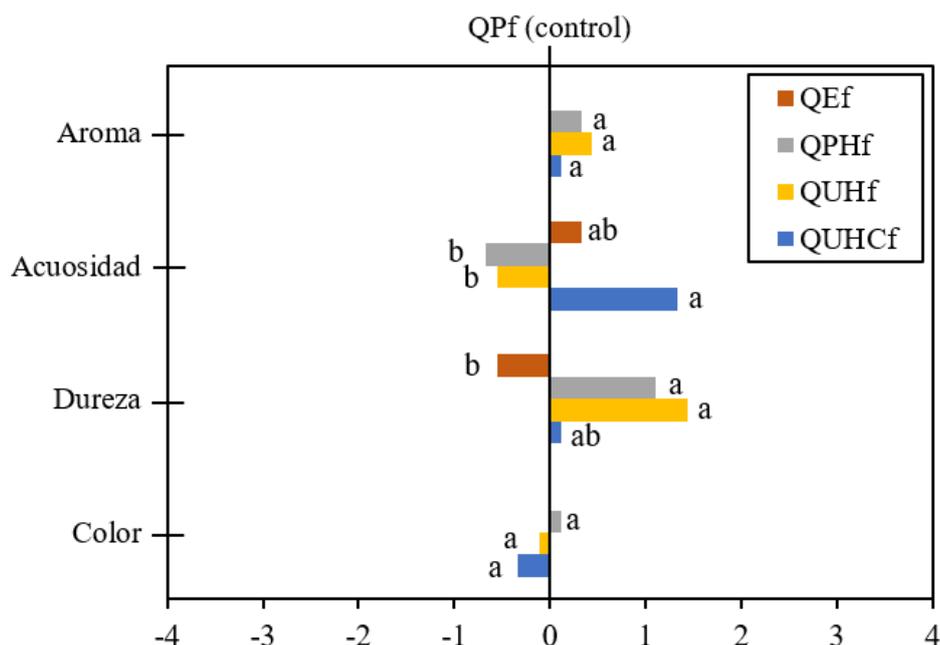


Figura 5.1. Análisis sensorial de los quesos entero y reducidos en grasa a los 2 días de almacenamiento a 4°C.

QEf: queso fresco elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QPHf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata homogenizada-pasteurizada (15 MPa, 65 °C por 30 min); QUHf: queso fresco reducido en grasa a elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C); QUHcf: queso fresco reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por homogeneización a ultra-alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C).

5.4. Conclusiones

Los tratamientos de homogeneización (convencional o UHPH) de la nata produjeron quesos reducidos en grasa con una matriz proteica más compacta en comparación a los elaborados a partir de nata pasteurizada. El tratamiento UHPH aplicado a la nata adicionada de caseinato sódico permite obtener quesos con menor lipólisis y oxidación lipídica en comparación a los tratamientos de homogeneización convencional, resultados que podrían explicarse por el buen recubrimiento de las superficies de los nuevos glóbulos de grasa creados que protegería dificultando la acción de las lipasas y de agentes oxidativos. A los 7 días de almacenamiento en refrigeración de los quesos no hubo diferencia de abundancia en componentes volátiles entre los quesos enteros ni reducidos sin adición o con adición de nata tratada por UHPH, siendo los quesos frescos adicionados de nata tratada por homogeneización convencional los que presentaron mayor abundancia. Sin embargo, los panelistas no distinguieron diferencias a nivel estadístico de aroma ni

color de los quesos, respecto al control, aunque los QUHf y QUHCf fueron valorados como más blancos, mientras que los QPHf como más amarillos, observaciones que concuerdan con los resultados de color instrumental. A nivel sensorial, la reducción de grasa en la leche de fabricación quesera disminuyó la sensación acuosa de los quesos e incrementó su dureza, especialmente en los QPHf y QUHf, mientras la adición de caseinato de sodio a la nata tratada por UHPH produjo quesos reducidos en grasa con propiedades de textura y de sensación acuosa más parecidas a los quesos elaborados con leche entera.

Este estudio muestra que la utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio en la leche de fabricación quesera produjo quesos reducidos en grasa con aptitudes sensoriales más parecidas a los quesos elaborados con leche entera.

5.5. Referencias

- Amelia, I., Drake, M., Nelson, B. & Barbano, D.M. (2013). A new method for the production of low-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, **96**, 4870-4884.
- Andrews, A.T., Anderson, M. & Goodenough, P.W. (1987). A study of the heat stabilities of a number of indigenous milk enzymes. *Journal of Dairy Research*, **54**, 237-246.
- Arora, G., Cormier, F. & Lee, B. (1995). Analysis of odor active volatiles in Cheddarcheese headspace by multidimensional GC/MS/Sniffing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, 748-752.
- Banks, J.M. (2004). The technology of low-fat cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, **57**, 199-207.
- Banks, J.M., Brechany, E.Y. & Christie, W.W. (1989). The production of low fat Cheddar-type cheese. *Journal of the Society of Dairy Technology*, **42**, 6-9.
- Bryant, A., Ustunol, Z. & Steffe, J. (1995). Texture of Cheddar Cheese as Influenced by Fat Reduction. *Journal of Food Science*, **60**, 1216-1219.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H. & Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, **13**, 841-866.
- Deeth, H.C. (2002). Lipolysis. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (editado por H. Roginski). Pp. 1595-1600. Oxford: Elsevier.
- Deeth, H.C. (2006). Lipoprotein lipase and lipolysis in milk. En: *International Dairy Journal*. Pp. 555-562.

- Deeth, H.C. & Fitz-Gerald, C.H. (2006). Lipolytic Enzymes and Hydrolytic Rancidity. En: *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 481-556. Boston, MA: Springer US.
- Dimos, A., Urbach, G.E. & Miller, A.J. (1996). Changes in flavour and volatiles of full-fat and reduced-fat Cheddar cheeses during maturation. *International Dairy Journal*, **6**, 981-995.
- Directiva 92/46/CEE. (1992). Comunidad Europea (CE). Directiva 92/42/CEE del Consejo, de 16 de junio de 1992, por la que se establecen las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 1-32.
- Drake, M.A. & Swanson, B.G. (1995). Reduced- and low-fat cheese technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*, **6**, 366-369.
- Driessen, F.M. (1989). Heat-Induced Changes in Milk. En: *Bulletin of International Dairy Federation* N°. 238. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julità, A. & Blayo, C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science and Technology*, **31**, 13-26.
- Escobar, D., Clark, S., Ganesan, V., Repiso, L., Waller, J. & Harte, F. (2011). High-pressure homogenization of raw and pasteurized milk modifies the yield, composition, and texture of queso fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, **94**, 1201-10.
- Esterbauer, H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **57**, 779S-786S.
- Everett, D.W. & Auty, M.A.E. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, **18**, 759-773.
- FAO/WHO. (2011). *Group standard for unripened cheese including fresh cheese. CODEX STAN 221-2001. Milk and Milk Products*. 2nd. Ed. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO) 2011.
- Fenaille, F., Mottier, P., Turesky, R.J., Ali, S. & Guy, P.A. (2001). Comparison of analytical techniques to quantify malondialdehyde in milk powders. *Journal of Chromatography A*, **921**, 237-245.
- Fenelon, M.A. & Guinee, T.P. (2000). Primary proteolysis and textural changes during

- ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal*, **10**, 151-158.
- Floury, J., Bellettre, J., Legrand, J. & Desrumaux, A. (2004a). Analysis of a new type of high pressure homogeniser. A study of the flow pattern. *Chemical Engineering Science*, **59**, 843-853.
- Floury, J., Desrumaux, A. & Lardières, J. (2000). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **1**, 127-134.
- Floury, J., Legrand, J. & Desrumaux, A. (2004b). Analysis of a new type of high pressure homogeniser. Part B. study of droplet break-up and coalescence phenomena. *Chemical Engineering Science*, **59**, 1285-1294.
- Gwartney, E.A., Foegeding, E.A. & Larick, D.K. (2002). The Texture of Commercial Full-Fat and Reduced-Fat Cheese. *Journal of Food Science*, **67**, 812-816.
- Hayes, M.G. & Kelly, A.L. (2003). High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties. *The Journal of Dairy Research*, **70**, 297-305.
- Hernando, I. (1998). Estudio de los principales cambios químicos y microestructurales ocurridos en el queso de Burgos durante su vida útil. PhD Thesis. *Universidad Politécnica de Valencia, España*.
- Hoffmann, G. & Taylor, S.L. (1989). *The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and their High Fat Products*. Academic Press.
- Horwood, J.F., Lloyd, G.T., Ramshaw, E.H. & Stark, W. (1981). An off-flavour associated with the use of sorbic acid during Feta cheese maturation. *Australian Journal of Dairy Technology*, **36**, 38-40.
- Hwang, C.H. & Gunasekaran, S. (2001). Measuring crumbliness of some commercial Queso Fresco-type Latin American cheeses. *Milchwissenschaft*, **56**, 446-450.
- Irigoyen, A., Castella, M., Ordóñez, A.I., Torre, P. & Ibáñez, F.C. (2002). Sensory and instrumental evaluations of texture in cheeses made from ovine milks with differing fat contents. *Journal of Sensory Studies*, **17**, 145-161.
- Karaman, A.D. & Akalin, A.S. (2013). Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream. *LWT - Food Science and Technology*, **50**, 503-510.
- Karaman, A.D., Benli, M. & Akalin, A.S. (2012). Microstructure of industrially produced reduced and low fat Turkish white cheese as influenced by the homogenization of

- cream. *Grasas y Aceites*, **63**, 267-273.
- Katsiari, M.C. & Voutsinas, L.P. (1994). Manufacture of low-fat Feta cheese. *Food Chemistry*, **49**, 53-60.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P. & Kondyli, E. (2002). Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures. *International Dairy Journal*, **12**, 757-764.
- Keenan, T.W., Moon, T.-W. & Dylewski, D.P. (1983). Lipid Globules Retain Globule Membrane Material After Homogenization. *Journal of Dairy Science*, **66**, 196-203.
- Koca, N. & Metin, M. (2004). Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal*, **14**, 365-373.
- Law, B.A. (1982). Flavor compounds in cheese organoleptic properties. *Perfumer and Flavourist*, **7**, 9-12.
- Lemay, A., Paquin, P. & Lacroix, C. (1994). Influence of Microfluidization of Milk on Cheddar Cheese Composition, Color, Texture, and Yield. *Journal of Dairy Science*, **77**, 2870-2879.
- Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E.J. & Sanchez-Garcia, J. (2000). Viscoelastic properties of white fresh cheese filled with sodium caseinate. *Journal of Texture Studies*, **31**, 379-390.
- Lobato-Calleros, C., Sosa-Pérez, A., Rodríguez-Tafoya, J., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Alonso, C. & Vernon-Carter, E.J. (2008). Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from W1/O/W2 emulsions and skim milk. *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 1847-1856.
- Lteif, L., Olabi, A., Kebbe Baghdadi, O. & Toufeili, I. (2009). The characterization of the physicochemical and sensory properties of full-fat, reduced-fat, and low-fat ovine and bovine Halloumi. *Journal of Dairy Science*, **92**, 4135-4145.
- Madadlou, A., Mousavi, M.E., Khosrowshahi asl, A., Emam-Djome, Z. & Zargaran, M. (2007). Effect of cream homogenization on textural characteristics of low-fat Iranian White cheese. *International Dairy Journal*, **17**, 547-554.
- Medina, M., Gaya, P., Guillén, A.M. & Nuñez, M. (1992). Characteristics of Burgos and Hispánico cheeses manufactured with calf rennet or with recombinant chymosin. *Food Chemistry*, **45**, 85-89.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1994). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 1. Manufacture, Composition,

- and Yield. *Journal of Dairy Science*, **77**, 3506-3515.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1995). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 2. Microstructure, Fat Globule Distribution, and Free Oil. *Journal of Dairy Science*, **78**, 1883-1895.
- Mistry, V. V. (2001). Low fat cheese technology. En: *International Dairy Journal*. Pp. 413-422.
- Modler, H.W. (1985). Functional Properties of Nonfat Dairy Ingredients - A Review. Modification of Products Containing Casein. *Journal of Dairy Science*, **68**, 2195-2205.
- Molimard, P. & Spinnler, H.E. (1996). Review: Compounds Involved in the Flavor of Surface Mold-Ripened Cheeses: Origins and Properties. *Journal of Dairy Science*, **79**, 169-184.
- Nair, M.G., Mistry, V. V. & Oommen, B.S. (2000). Yield and functionality of Cheddar cheese as influenced by homogenization of cream. *International Dairy Journal*, **10**, 647-657.
- Nedomová, Š., Kilián, L., Pytel, R. & Kumbár, V. (2017). Effect of ripening time on colour and texture properties in cheese. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, **11**, 296-301.
- O'Brien, N.M. & O'Connor, T.P. (2002). Lipid Oxidation. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (editado por H. Roginski). Pp. 1600-1604. Oxford: Elsevier.
- Paquin, P. (1999). Technological properties of high pressure homogenizers: The effect of fat globules, milk proteins, and polysaccharides. *International Dairy Journal*, **9**, 329-335.
- Paulson, B.M., McMahon, D.J. & Oberg, C.J. (1998). Influence of Sodium Chloride on Appearance, Functionality, and Protein Arrangements in Nonfat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **81**, 2053-2064.
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2008). Effects of ultra-high-pressure homogenization treatment on the lipolysis and lipid oxidation of milk during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 7125-7130.
- Poduval, V.S. & Mistry, V. V. (1999). Manufacture of Reduced Fat Mozzarella Cheese Using Ultrafiltered Sweet Buttermilk and Homogenized Cream. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1-9.
- Póltorak, A., Wyrwisz, J., Moczowska, M., Marcinkowska-Lesiak, M., Stelmasiak, A.,

- Ulanicka, U., Zalewska, M., Wierzbicka, A. & Sun, D.-W. (2015). Correlation between instrumental texture and colour quality attributes with sensory analysis of selected cheeses as affected by fat contents. *International Journal of Food Science & Technology*, **50**, 999-1008.
- Prentice, J.H., Langley, K.R. & Marshall, R.J. (1993). Cheese Rheology. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volume 1 General Aspects* (editado por P.F. Fox). Pp. 303-340. Boston, MA: Springer US.
- Reglamento CE 1924. (2006). Comunidad Europea (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo del 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y propiedades saludables en los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 9-25.
- Reglamento CE 2073. (2005). Comunidad Europea (CE) n° 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 1-22.
- Rodríguez, J. (1998). Recent advances in the development of low-fat cheeses. *Trends in Food Science and Technology*, **9**, 249-254.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Guo, M.R. & Kindstedt, P.S. (1998). Effect of the Modification of Fat Particle Size by Homogenization on Composition, Proteolysis, Functionality, and Appearance of Reduced Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **81**, 2065-2076.
- Singh, H. (2006). The milk fat globule membrane — A biophysical system for food applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, **11**, 154-163.
- Sipahioglu, O., Alvarez, V.B. & Solano-Lopez, C. (1999). Structure, physico-chemical and sensory properties of feta cheese made with tapioca starch and lecithin as fat mimetics. *International Dairy Journal*, **9**, 783-789.
- Sundar, R. & Upadhyay, K.G. (1990). Effects of standardization of buffalo milk for casein/fat ratio on Mozzarella cheese composition and cheese making efficiency. *Indian Journal of Dairy Science*, **43**, 588-597.
- Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L., Guiraud, J.P. & Cheftel, J.C. (2003). High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. *International Dairy Journal*, **13**, 427-439.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. & Geurts, T.J. (2006). *Dairy Science and Technology*. 2nd edn. Boca Raton: CRC Press LLC. Taylor & Francis Group.
- Zamora, A., Ferragut, V., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012a). Changes in the surface protein of the fat globules during ultra-high pressure homogenisation and

- conventional treatments of milk. *Food Hydrocolloids*, **29**, 135-143.
- Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P.D., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2007). Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on the Cheese-Making Properties of Milk. *Journal of Dairy Science*, **90**, 13-23.
- Zamora, A., Ferragut, V., Juan, B., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2011). Effect of ultra-high pressure homogenisation of milk on the texture and water-typology of a starter-free fresh cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **12**, 484-490.
- Zamora, A., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012b). Ultra-high pressure homogenisation of milk: technological aspects of cheese-making and microbial shelf life of a starter-free fresh cheese. *Journal of Dairy Research*, **79**, 168-175.
- Zamora, A., Juan, B. & Trujillo, A.J. (2015). Compositional and biochemical changes during cold storage of starter-free fresh cheeses made from ultra-high-pressure homogenised milk. *Food Chemistry*, **176**, 433-440.

Capítulo 6

Capítulo 6. EFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA-ALTA PRESIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS, BIOQUÍMICAS Y SENSORIALES DE QUESOS MADURADOS REDUCIDOS EN GRASA

6.1. Introducción

El queso madurado es una excelente fuente de proteínas (aminoácidos esenciales), grasas, minerales (calcio, hierro y fósforo), vitaminas (Holsinger, 1995) y con pequeñas cantidades de lactosa (O'Brien y O'Connor, 2004). La maduración es una etapa principal en la fabricación de quesos y de ella depende en gran medida las características sensoriales y en general la calidad de este tipo de queso. En este periodo ocurren cambios bioquímicos como la glucólisis, proteólisis y lipólisis, y cambios catabólicos secundarios, como la desaminación, descarboxilación, β -oxidación y formación de ésteres (Holsinger *et al.*, 1995), que producen modificaciones importantes en la composición y estructura del queso y, en consecuencia, en su flavor y su textura (Walstra *et al.*, 2006). La maduración de los quesos está influenciada por múltiples factores, tales como, el contenido de humedad, pH, contenido de sal, calidad microbiológica, contenido de enzimas de las cuajadas, entre otros, factores determinados principalmente por la composición y calidad de la leche de quesería, de los tratamientos tecnológicos aplicados a la leche, y de las condiciones y parámetros aplicados durante la elaboración y maduración del queso (Fox y McSweeney, 2006).

Clásicamente, se aplican muy pocos tratamientos previos a la leche de quesería, con algunas variedades de queso elaboradas directamente a partir de leche entera cruda, aunque la mayoría se hacen con leche pasteurizada cuya composición (p.e., relación grasa/proteína) puede haber sido estandarizada. Sin embargo, ha habido un interés creciente en la utilización de estrategias más novedosas y sofisticadas para el pretratamiento del queso y de la leche. Entre los enfoques explorados se incluyen el uso de tecnologías alternativas de procesado (p.e., filtración de membrana, homogeneización, tratamientos no térmicos como las altas presiones hidrostáticas o los pulsos eléctricos de alta intensidad, o tratamientos térmicos más severos que la pasteurización) o la adición de fuentes de proteína o sólidos lácteos (leche en polvo, productos a base de caseinatos o proteína de suero) o enzimas. Las razones principales de aplicar estos tratamientos previos a la leche de quesería son: (1) controlar la microbiología de la leche cruda y el queso resultante mejorando en lo posible los resultados obtenidos por aplicación de

tratamientos térmicos y evitando sus efectos negativos; (2) aumentar el rendimiento de queso, por ejemplo, a través de la incorporación inducida por calor o presión de proteínas de suero de leche, o potenciar las propiedades sensoriales del queso reducido en grasa mediante la adición directa de proteínas de suero microparticuladas; (3) manipulación de la maduración del queso, reduciendo de la probabilidad de desarrollo de sabores y aromas desagradables por inactivación de enzimas o aceleración de la maduración mediante el uso de enzimas o de las altas presiones hidrostáticas; o (4) mejorar la textura y otras propiedades funcionales del queso (Kelly *et al.*, 2008).

La homogeneización es un tratamiento que clásicamente se ha aplicado a la leche de consumo y de producción de diferentes productos lácteos, siendo el objetivo principal de esta tecnología en la leche la reducción del tamaño de los glóbulos grasos, retrasando así su velocidad de cremado. Sin embargo, la aplicación de la homogeneización a la leche de quesería es escasa estando limitada a la elaboración de queso fresco con el fin de evitar la formación de flóculos de grasa y reducir las pérdidas de grasa en el suero, y en la obtención de quesos de vena azul por la necesidad de obtener en estas variedades de quesos una gran lipólisis, característica en estos quesos. Esta tecnología también ha sido utilizada en la elaboración de diferentes subclases de variedades específicas de queso, como son los quesos reducidos y bajos en grasa (Fox y McSweeney, 2004). En este respecto, se han realizado estudios de homogeneización de la nata como una herramienta de proceso para la mejora de quesos Cheddar (Metzger y Mistry, 1994, 1995), Mozzarella (Rudan *et al.*, 1998; Poduval y Mistry, 1999), queso blanco Iraní (Madadlou *et al.*, 2007) y Turco (Karaman y Akalın, 2013) reducidos y bajos en grasa, incrementando la humedad (Mistry, 2001) y la velocidad de hidrólisis de los lípidos en el queso y el rendimiento quesero (Rudan *et al.*, 1998; Madadlou *et al.*, 2007), reduciendo las pérdidas de grasa en el lactosuero (Metzger y Mistry, 1994; Rudan *et al.*, 1998; Nair *et al.*, 2000; Karaman y Akalın, 2013).

La homogeneización a ultra-alta presión (UHPH) es una tecnología basada en los mismos principios que la homogeneización convencional pero capaz de alcanzar presiones de hasta 350 MPa gracias al diseño y material de las válvulas de homogeneización. Esta tecnología permite reducir la contaminación microbiana, el tamaño de partículas y mejorar la estabilidad física de los productos tratados. Sin embargo, pocos estudios se han llevado a cabo para evaluar el potencial de la UHPH como tratamiento alternativo en la producción de quesos (Trujillo *et al.*, 2016). Esta tecnología se ha mostrado útil para aumentar el rendimiento y la humedad del queso, así como para mejorar las propiedades

sensoriales, al reducir la sinéresis durante el almacenamiento y mejorar la calidad microbiológica de quesos frescos elaborados a partir de la leche tratada por UHPH (Escobar *et al.*, 2011; Zamora *et al.*, 2011, 2012b).

En el presente estudio, se pretende utilizar nata tratada por UHPH conjuntamente con leche desnatada en la elaboración de quesos madurados reducidos en grasa. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la incorporación de nata tratada mediante UHPH con adición de caseinato de sodio en las características fisicoquímicas, bioquímicas y sensoriales de quesos madurados reducidos en grasa, en comparación a quesos elaborados a partir de nata pasteurizada.

6.2. Materiales y métodos

Para el cumplimiento de este objetivo, se fabricaron 3 tipos diferentes de quesos madurados a partir de leches LE, LP y LUHC: queso madurado elaborado con leche al 3,2% de grasa a partir de nata pasteurizada (QEm), queso madurado reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a partir de nata pasteurizada (QPm) y queso madurado reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a partir de nata adicionada con 1,5% de caseinato de sodio y tratada por UHPH (QUHCm). Se determinaron los efectos de los tratamientos tecnológicos aplicados sobre las características fisicoquímicas (composición, color, textura), bioquímicas (proteólisis, lipólisis, oxidación lipídica, compuestos volátiles), sensoriales y de rendimiento quesero bruto de los quesos anteriormente citados, según se detalla en la sección de Plan de Trabajo (Figura 2.3) y aplicando las técnicas analíticas descritas en la sección general de Materiales y Métodos (subsecciones 3.5, 3.6, 3.8, 3.9, 3.10, 3.11 y 3.12).

6.3. Resultados y discusión

6.3.1. Análisis fisicoquímico y rendimiento de los quesos

La media de los valores del análisis fisicoquímico y rendimiento de los quesos se muestra en la Tabla 6.1. En general, los tratamientos realizados a la nata no variaron significativamente la composición fisicoquímica ni el rendimiento de los quesos reducidos en grasa, mientras que la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera incrementó el pH y la humedad de los quesos, observándose una disminución en el rendimiento quesero.

A los 30 y 60 días de maduración los QPm y QUHCm presentaron mayor nivel de pH en comparación al QEm. Los incrementos de pH en quesos elaborados por reducción de la grasa de la leche también han sido observados en quesos Feta bajos en grasa (Michaelidou *et al.*, 2003) y quesos Cheddar reducidos en grasa (Fenelon y Guinee, 2000; Guinee *et al.*, 2000), y atribuido principalmente a la disminución de los niveles de la relación lactato/proteína. Durante la maduración, el pH de los quesos reducidos en grasa no mostró variación, mientras que el pH de los QEm disminuyó hasta los 60 días, aunque solo de manera significativa ($P < 0,05$) hasta los 30 días. También se ha descrito disminuciones del pH en quesos Cheddar con toda su grasa (Huffman y Kristoffersen, 1984; Bouzas *et al.*, 1993; Fenelon y Guinee, 2000) y atribuido principalmente a la producción de ácidos orgánicos.

Varios autores han descrito en sus trabajos incrementos de humedad en quesos reducidos en grasa (Katsiari y Voutsinas, 1994; Bryant *et al.*, 1995; Ustunol *et al.*, 1995; Rudan *et al.*, 1999; Fenelon *et al.*, 2000; Koca y Metin, 2004) y atribuido principalmente a la mayor relación de caseína/grasa presente en las leches estandarizadas que se manifiesta en los quesos reducidos en grasa, tal y como lo describieron Sundar y Upadhyay (1990). Durante el almacenamiento la humedad disminuyó en todos los quesos debido al proceso de secado en cámara.

El porcentaje de grasa promedio en los quesos enteros y reducidos en grasa fue de ~ 26 y ~ 15%, respectivamente, cumpliendo con la denominación de quesos reducidos en grasa (Reglamento CE 1924, 2006).

La reducción de la grasa de la leche de quesería disminuyó el rendimiento de los QPm y QUHCm tras su elaboración. La disminución del rendimiento quesero de los quesos reducidos en grasa también ha sido observado por varios autores (Gilles y Lawrence, 1985; Banks *et al.*, 1989; Sundar y Upadhyay, 1990; Fenelon y Guinee, 2000) y atribuido a la disminución de la grasa de la leche, uno de los principales parámetros de composición de la leche que determina el rendimiento del queso (Banks *et al.*, 1989) y debido a que la cantidad de grasa eliminada no fue igual a la humedad añadida (Mistry, 2001). Durante la maduración de los quesos los rendimientos disminuyeron en la proporción de las pérdidas de masa de los quesos. Estas pérdidas fueron de ~ 20% para el QEm y ~ 25% para los QPm y QUHCm a los 30 días de maduración, incrementándose hasta ~ 27% para QEm y ~ 34% para QPm y QUHCm a los 60 días de maduración.

Tabla 6.1. Resultados del análisis fisicoquímico y rendimiento de quesos a diferentes días de maduración.

Parámetro	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
pH	1	5,30 ^{Aa} ± 0,06	5,28 ^{Aa} ± 0,07	5,26 ^{Aa} ± 0,09
	30	5,12 ^{Bb} ± 0,07	5,26 ^{Aa} ± 0,09	5,23 ^{Aa} ± 0,07
	60	5,07 ^{Bb} ± 0,07	5,21 ^{Aa} ± 0,08	5,19 ^{Aa} ± 0,08
Humedad (%)	1	54,62 ^{Ab} ± 1,36	57,27 ^{Aa} ± 1,73	56,34 ^{Aa} ± 1,92
	30	51,33 ^{Bb} ± 1,24	52,63 ^{Ba} ± 0,51	53,47 ^{Ba} ± 0,96
	60	48,47 ^{Cb} ± 0,74	49,87 ^{Ca} ± 1,05	49,15 ^{Ca} ± 1,33
Grasa en materia seca (FDM, %)	1	45,33 ^{Ba} ± 3,07	32,00 ^{Ab} ± 1,89	32,50 ^{Ab} ± 1,05
	30	52,50 ^{Aa} ± 2,43	33,33 ^{Ab} ± 1,97	31,83 ^{Ab} ± 1,72
	60	54,17 ^{Aa} ± 0,98	33,67 ^{Ab} ± 1,21	31,77 ^{Ab} ± 2,14
Rendimiento (%)	1	14,23 ^a ± 0,84	11,39 ^b ± 1,85	11,19 ^b ± 1,30

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B, C) indican para cada parámetro diferencias entre los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

6.3.2. Proteólisis

La proteólisis es considerada como el principal proceso bioquímico en la mayoría de las variedades de quesos. Durante la maduración, la proteólisis de los quesos esta catalizada principalmente por las enzimas procedentes de las preparaciones coagulantes (de los extractos de cuajo principalmente quimosina), la leche (plasmina), bacterias iniciadoras, bacterias del ácido láctico no iniciadoras y de bacterias exógenas (Sousa *et al.*, 2001). La hidrólisis inicial de las caseínas (proteólisis primaria) se debe principalmente a la acción enzimática de las enzimas coagulantes residuales en el queso (p.e. quimosina) sobre la caseína α_{s1} , y de la plasmina (enzima endógena de la leche) sobre la caseína β (McSweeney y Sousa, 2000; Sousa *et al.*, 2001). La proteólisis secundaria es considerada la degradación de los péptidos de alto y medio peso molecular a péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres debido a la acción de las proteinasas y peptidasas de los microorganismos (Rank *et al.*, 1985). Los productos finales de la proteólisis son los aminoácidos libres que se encuentran a distintas concentraciones dependiendo del tipo de queso y han sido empleados como índice de maduración (McSweeney y Fox, 1997). Su

catabolismo puede dar lugar a un número de compuestos que podrían contribuir al aroma y sabor del queso, tales como, amoniaco, aminos, aldehídos, fenoles, indol y alcoholes (Sousa *et al.*, 2001).

En general, la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera ni la homogeneización de la nata por UPHH afectó significativamente ($P < 0,05$) los niveles de proteólisis secundaria, obteniendo valores similares en la concentración de aminoácidos en los quesos a los 60 días de maduración (Tabla 6.2). Sin embargo, el tratamiento UHPH de la nata incrementó ($P < 0,05$) el valor de los aminoácidos libres en los quesos reducidos en grasa al día 1 de maduración.

La concentración de aminoácidos total aumentó en todos los quesos con el tiempo de maduración. El incremento fue más acusado y significativo ($P < 0,05$) entre los días 1 y 30, siendo menor entre los días 30 y 60, y no estadísticamente significativo. El incremento en la actividad proteolítica de los quesos durante su maduración ha sido descrito en la mayoría de variedades de quesos madurados por acción de las bacterias lácticas (Banks *et al.*, 1989; Ardö, 1993; Fenelon y Guinee, 2000; Juan *et al.*, 2016) y atribuido principalmente a la acción proteásica y peptidásica de las bacterias del ácido láctico iniciadoras y no iniciadoras.

Tabla 6.2. Aminoácidos libres totales en los quesos durante la maduración.

	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
Aminoácidos libres (mg Leu/g queso)	1	0,91 ^{Bb} ± 0,41	0,81 ^{Bb} ± 0,33	1,32 ^{Ba} ± 0,41
	30	2,64 ^{Aa} ± 0,59	2,53 ^{Aa} ± 0,69	2,35 ^{Aa} ± 0,64
	60	2,85 ^{Aa} ± 0,60	2,77 ^{Aa} ± 0,78	2,64 ^{Aa} ± 0,74

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B, C) indican para cada parámetro diferencias entre los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

6.3.3. Lipolisis

La lipólisis durante la maduración de los quesos es causada por la LPL nativa, enzimas del cultivo iniciador y bacterias del ácido láctico no iniciadoras (BALNS) (Collins *et al.*,

2003). La cantidad total de AGL de los QEm y QUHCm se incrementó hasta el día 30 de maduración, mostrando a los 60 días una ligera disminución en su concentración. Estos resultados podrían explicarse por el catabolismo de AGL en otros compuestos tales como metilcetonas, alcoholes secundarios, lactonas (Deeth y Fitz-Gerald, 2006) aldehídos y alcoholes derivados (Collins *et al.*, 2003). Sin embargo, en el caso del QPm la concentración de AGL totales incrementó hasta el día 60 de maduración.

En general, la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera disminuyó significativamente el contenido total de AGL (Tabla 6.3). Los niveles de AGL de cadena corta, media y larga en QPm disminuyeron significativamente en comparación a QEm. Varios estudios han demostrado que los quesos bajos en grasa sufren carencias de sabor por su menor concentración de ácidos grasos libres (Foda *et al.*, 1974; Banks *et al.*, 1989; Olson y Johnson, 1990; Dimos *et al.*, 1996) y es atribuido principalmente a la reducción del contenido de grasa de la leche.

Como se ha mostrado anteriormente los tratamientos de homogeneización reducen el tamaño de los glóbulos de grasa, siendo más acusado con el tratamiento de UHPH de la nata, presentando los nuevos glóbulos de grasa formados, fenómenos de agregación por la falta de recubrimiento proteico (ver apartado 4.3.3 del capítulo 4). También es importante señalar que la homogeneización daña la MFGM, provoca cambios en su composición (Zamora *et al.*, 2012a) y aumenta la superficie total del glóbulo de grasa, proporcionando una mayor interfase lípido-suero para la actividad de la lipasa (Collins *et al.*, 2003). No obstante, la adición de 1,5% de caseinato de sodio permitió una cobertura proteica completa de la superficie de los nuevos glóbulos de grasa, impidiendo fenómenos de agregación y dificultando la actividad de las enzimas lipolíticas. Asimismo, las condiciones de presión y temperatura del tratamiento UHPH también podrían haber influenciado en la actividad lipolítica de las enzimas. Datta *et al.* (2005) observaron que la activación/inactivación de las enzimas lipolíticas mediante el tratamiento de UHPH dependía de la temperatura que se alcanzaba durante el tratamiento. Estos autores inactivaron totalmente la LPL nativa de la leche mediante un tratamiento UHPH a 200 MPa y temperatura de salida > 71 °C. Varios autores observaron incrementos de temperaturas superiores a 80 °C en muestras de leche tratada por UHPH a 300 MPa (Pereda *et al.*, 2008; Escobar *et al.*, 2011; Zamora *et al.*, 2012a). Así el tratamiento UHPH aplicado a la nata limitaría la actividad lipásica nativa de la leche en esta nata en comparación a la nata pasteurizada, en la que una parte de la LPL nativa de la leche estaría activa en la nata por no alcanzar el tratamiento térmico de pasteurización aplicado a la

nata, las condiciones de tiempo y/o temperatura necesarios para su inactivación completa. Esto conjuntamente con un mejor recubrimiento de los nuevos glóbulos grasos formados debido a la adición de caseinato de sodio y el tratamiento de UHPH limitaría la acción de la LPL residual procedente de la leche desnatada pasteurizada y de las actividades lipásicas de las bacterias iniciadoras, y podría explicar la disminución de AGL encontrados en los quesos QUHCm en comparación a los QPm.

Tabla 6.3. Abundancia de ácidos grasos libres de los quesos madurados por un periodo de 60 días.

AGL	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
C4:0	1	3,52 ^{Ca} ± 0,60	2,13 ^{Bc} ± 0,34	3,05 ^{Cb} ± 1,06
	30	7,41 ^{Aa} ± 0,77	5,54 ^{Ac} ± 0,89	6,22 ^{Ab} ± 0,70
	60	5,76 ^{Ba} ± 0,09	5,17 ^{Ab} ± 0,17	4,40 ^{Bc} ± 0,08
C6:0	1	1,62 ^{Ba} ± 0,53	1,23 ^{Cb} ± 0,17	0,90 ^{Bc} ± 0,30
	30	2,46 ^{Aa} ± 0,34	1,90 ^{Bb} ± 0,15	2,01 ^{Ab} ± 0,80
	60	2,77 ^{Ab} ± 0,07	3,41 ^{Aa} ± 0,18	2,17 ^{Ac} ± 0,07
C8:0	1	2,33 ^{Ba} ± 0,83	1,43 ^{Bb} ± 0,32	1,22 ^{Cc} ± 0,13
	30	3,78 ^{Aa} ± 0,99	3,40 ^{Ab} ± 1,34	2,68 ^{Ac} ± 1,02
	60	3,47 ^{Aa} ± 0,14	3,15 ^{Ab} ± 0,09	2,00 ^{Bc} ± 0,29
<i>Subtotal CC</i>	1	7,47 ^{Ca} ± 0,80	4,78 ^{Cc} ± 0,82	5,16 ^{Cb} ± 0,65
	30	13,65 ^{Aa} ± 0,81	10,83 ^{Bb} ± 0,56	10,91 ^{Ab} ± 2,50
	60	12,00 ^{Ba} ± 0,21	11,72 ^{Ab} ± 0,20	8,57 ^{Bc} ± 0,22
C10:0	1	4,54 ^{Ca} ± 2,45	1,58 ^{Cb} ± 0,74	0,56 ^{Bc} ± 0,22
	30	10,05 ^{Aa} ± 1,69	3,23 ^{Bc} ± 1,47	4,37 ^{Ab} ± 2,02
	60	7,47 ^{Ba} ± 0,05	4,83 ^{Ab} ± 0,17	1,73 ^{Bc} ± 0,10
C12:0	1	7,64 ^{Ba} ± 4,44	2,70 ^{Cb} ± 1,34	0,77 ^{Cc} ± 0,25
	30	14,89 ^{Aa} ± 2,42	4,65 ^{Bb} ± 2,22	4,68 ^{Ab} ± 1,71
	60	11,91 ^{Aa} ± 0,24	7,23 ^{Ab} ± 0,09	2,70 ^{Bc} ± 0,23
C14:0	1	8,10 ^{Ca} ± 0,16	2,26 ^{Cb} ± 0,41	1,30 ^{Bc} ± 0,50
	30	37,45 ^{Aa} ± 3,50	15,83 ^{Bb} ± 0,67	8,62 ^{Ac} ± 1,94
	60	31,27 ^{Ba} ± 0,36	18,03 ^{Ab} ± 0,23	7,38 ^{Ac} ± 1,07
<i>Subtotal CM</i>	1	20,28 ^{Ca} ± 7,02	6,54 ^{Cb} ± 1,70	2,63 ^{Cc} ± 0,95
	30	62,39 ^{Aa} ± 7,60	23,70 ^{Bb} ± 4,13	17,67 ^{Ac} ± 5,65
	60	50,65 ^{Ba} ± 0,37	30,08 ^{Ab} ± 0,41	11,81 ^{Bc} ± 1,06

Tabla 6.3. (Continuación)

AGL	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
C16:0	1	34,18 ^{Ca} ± 0,70	14,71 ^{Cb} ± 0,31	9,19 ^{Cc} ± 1,71
	30	119,91 ^{Aa} ± 5,30	54,29 ^{Bb} ± 2,67	27,75 ^{Ac} ± 2,85
	60	104,35 ^{Ba} ± 3,01	60,84 ^{Ab} ± 0,66	24,31 ^{Bc} ± 1,58
C18:0	1	26,08 ^{Ca} ± 4,64	13,28 ^{Cb} ± 0,49	10,85 ^{Bc} ± 0,82
	30	49,59 ^{Aa} ± 4,69	22,10 ^{Bb} ± 4,17	18,11 ^{Ac} ± 2,55
	60	39,87 ^{Ba} ± 0,69	32,36 ^{Ab} ± 1,63	18,65 ^{Ac} ± 1,32
C18:1	1	6,25 ^{Ba} ± 1,18	4,21 ^{Bb} ± 0,29	3,51 ^{Bc} ± 0,21
	30	9,76 ^{Aa} ± 0,26	5,41 ^{Ac} ± 0,91	5,79 ^{Ab} ± 1,37
	60	6,28 ^{Ba} ± 0,27	5,94 ^{Ab} ± 0,43	4,18 ^{Bc} ± 0,14
C18:2	1	3,58 ^{Ba} ± 0,32	2,69 ^{Bb} ± 0,18	2,31 ^{Bc} ± 0,11
	30	4,18 ^{Aa} ± 0,32	3,15 ^{Ac} ± 0,30	3,48 ^{Ab} ± 0,80
	60	2,15 ^{Cb} ± 0,33	2,54 ^{Ba} ± 0,33	2,35 ^{Bab} ± 0,05
<i>Subtotal CL</i>	<i>1</i>	<i>70,08^{Ca} ± 6,46</i>	<i>34,89^{Cb} ± 0,75</i>	<i>25,86^{Cc} ± 2,62</i>
	<i>30</i>	<i>183,44^{Aa} ± 10,35</i>	<i>84,95^{Bb} ± 7,94</i>	<i>55,13^{Ac} ± 7,48</i>
	<i>60</i>	<i>152,65^{Ba} ± 3,58</i>	<i>101,68^{Ab} ± 1,54</i>	<i>49,82^{Bc} ± 2,85</i>
Total, AGL	1	97,82^{Ca} ± 14,11	46,21^{Cb} ± 2,90	33,66^{Cc} ± 2,94
	30	259,47^{Aa} ± 18,59	119,48^{Bb} ± 11,57	83,70^{Ac} ± 15,57
	60	215,30^{Ba} ± 3,59	143,48^{Ab} ± 1,31	69,85^{Bc} ± 4,02

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B, C) indican diferencias para cada parámetro entre los días de maduración ($P < 0,05$).

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

Los caracteres en cursiva se usan para cantidades de subtotales de ácidos grasos libres de cadena corta (CC), media (CM) y larga (CL), y en negrita para la cantidad total de ácidos grasos libres (AGL).

6.3.4. Oxidación lipídica

La oxidación de los quesos madurados valorada por la técnica de TBARs se muestra en la Tabla 6.4. Los tratamientos realizados a la nata no variaron el valor de TBARs de los quesos mostrando valores de 1,15 a 1,32 mg MDA/kg queso.

Durante la maduración de los quesos, tampoco se observaron variaciones significativas ($P < 0,05$) de los valores de TBARs, aunque se pudo cuantificar pequeños incrementos con el tiempo de maduración (Tabla 6.4).

Tabla 6.4. Oxidación secundaria de los quesos madurados a diferentes días de maduración.

	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
TBARs (mg MDA/kg queso)	1	1,16 ± 0,18	1,15 ± 0,15	1,19 ± 0,15
	30	1,25 ± 0,12	1,29 ± 0,11	1,29 ± 0,09
	60	1,32 ± 0,10	1,29 ± 0,07	1,31 ± 0,10

Los valores representan promedios ± desviación estándar.

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

6.3.5. Compuestos volátiles

El análisis de los perfiles cromatográficos permitió identificar un total de 34 compuestos volátiles en las muestras de queso analizadas a los días 1, 30 y 60 de maduración. En la Tabla 6.5. se muestran los compuestos volátiles totales agrupados por familia química (cetonas, ésteres, alcoholes, hidrocarburos aromáticos, terpenos, aldehídos y ácidos) para los tres tipos de quesos.

Se identificaron un total de 6 cetonas, de las cuales la propanona, 2-butanona, 2,3-butanediona y 2-nonanona no se detectaron hasta avanzada la maduración. A los 30 y 60 días, la 2,3-butanediona fue la cetona más abundante, la cual presenta aroma a mantequilla dulce y vainilla (Molimard y Spinnler, 1996) y tiene un papel importante en el perfil aromático de los productos lácteos fermentados y descrita como componente aromático importante en quesos como el Camembert, Cheddar y Emmental (Curioni y Bosset, 2002). El queso reducido en grasa presentó los valores más altos de cetonas totales, debido a la mayor cantidad de todas ellas excepto la 3-hidroxi-2-butanona. Sin embargo, los quesos reducidos en grasa adicionados de nata tratada por UHPH presentaron unos valores de cetonas más parecidos a los quesos enteros, aunque ligeramente inferiores, sólo significativamente a los 30 días. A pesar de presentar mayores valores de propanona, 2-butanona, 2-heptanona y 2-nonanona, la reducción del valor de 2,3-butanediona y 3-hidroxi-2-butanona provocó esta ligera disminución.

Los ésteres contribuyen de manera importante al aroma de los quesos debido a su bajo umbral de percepción (Molimard y Spinnler, 1996) y su alta volatilidad a temperatura

ambiente. Se identificaron un total de tres ésteres, no obstante, dos de ellos no se detectaron hasta avanzada maduración. La reducción de grasa de la leche provocó un incremento del valor de ésteres a los días 1 y 30 de maduración. Sin embargo, a los 60 días no se observaron diferencias. La adición de nata tratada por UHPH en la leche de quesería para elaborar quesos reducidos en grasa provocó un incremento de acetato de etilo al día 1 de maduración. Sin embargo, estos quesos no presentaron butanoato de etilo, mostrando los valores más altos y más bajos de ésteres a los días 1 y 60 de maduración, respectivamente.

Se detectaron cinco alcoholes en los quesos QUHCm, cuatro en los quesos QPm y sólo dos en los quesos QEm. No obstante, a los 60 días de maduración, los quesos con mayor abundancia de alcoholes fueron los QEm seguidos por los QPm, siendo los QUHCm los que presentaron menor cantidad, debido a las diferencias de abundancia de etanol.

A los 30 y 60 días de maduración se detectaron 3 terpenos, sin embargo, dos de ellos, el β -pineno y β -mirceno, aparecieron avanzada la maduración. El limoneno fue el terpeno más abundante, observándose diferencias entre quesos. El QPm fue el que presentó más abundancia de este compuesto, seguido por el QEm. El QUHCm presentó los valores más bajos, dando lugar a la menor abundancia total de terpenos.

Ocho ácidos fueron detectados en los quesos a lo largo de la maduración, siendo el compuesto de mayor abundancia del perfil volátil. De todos los ácidos, el mayoritario fue el butanoico, descrito como un compuesto importante del perfil aromático de los quesos (Moio y Addeo, 1998). A día 1 de maduración, los quesos reducidos adicionados de nata tratada por UHPH presentaron los niveles más elevados de ácidos, debido a su mayor abundancia de ácido acético, butanoico y hexanoico. Sin embargo, a los 60 días de maduración, los quesos QUHCm presentaron la menor cantidad de todos los ácidos, siendo los quesos con menor abundancia total de esta familia de compuestos. Estos resultados concuerdan con los menores valores de ácidos grasos libres encontrados en estos quesos (Tabla 6.3). Los mayores niveles de ácidos en QUHCm a día 1 también podría ser debido a que al homogeneizar la nata se formaron nuevos glóbulos grasos, haciéndolos más accesibles a su transformación. Sin embargo, los efectos que la UHPH puede causar en las lipasas (mayor inactivación en comparación con la pasteurización) explicarían los valores más bajos a los 30 y 60 días. Datta *et al.* (2005) inactivaron totalmente la LPL nativa de muestras de leche mediante un tratamiento UHPH a 200 MPa y $T_i > 71$ °C.

Tabla 6.5. Abundancia de compuestos volátiles (área de pico $\times 10^6$) detectados en la fracción volátil de quesos madurados.

	TR ¹	Día	Quesos ²		
			QEm	QPm	QUHCm
<i>Cetonas</i>					
Propanona	10,80	1	Nd ^B	Nd ^B	Nd ^B
		30	Nd ^B	Nd ^B	Nd ^B
		60	0,24 ^{Ab} \pm 0,02	0,23 ^{Ab} \pm 0,02	0,38 ^{Aa} \pm 0,02
2-butanona	12,94	1	Nd ^B	Nd ^B	Nd ^B
		30	0,30 ^{Ab} \pm 0,03	0,78 ^{Aa} \pm 0,11	Nd ^{Bc}
		60	0,35 ^{Ac} \pm 0,04	0,73 ^{Aa} \pm 0,11	0,54 ^{Ab} \pm 0,06
2,3-Butanediona	15,36	1	Nd ^C	Nd ^C	Nd ^C
		30	8,43 ^{Ba} \pm 0,87	9,36 ^{Ba} \pm 1,22	1,76 ^{Bb} \pm 0,27
		60	9,95 ^{Ab} \pm 0,86	13,27 ^{Aa} \pm 1,74	6,28 ^{Ac} \pm 1,01
2-heptanona	33,32	1	0,84 ^{Ca} \pm 0,12	0,67 ^{Cb} \pm 0,12	0,26 ^{Cc} \pm 0,05
		30	2,01 ^{Bb} \pm 0,23	1,80 ^{Bb} \pm 0,14	2,89 ^{Ba} \pm 0,52
		60	3,39 ^{Ac} \pm 0,57	9,68 ^{Aa} \pm 1,67	6,02 ^{Ab} \pm 0,57
3-hidroxi-2-butanona	25,80	1	0,28 ^{Cc} \pm 0,02	0,97 ^{Ba} \pm 0,08	0,71 ^{Bb} \pm 0,14
		30	1,30 ^{Ba} \pm 0,11	0,70 ^{Bb} \pm 0,10	0,78 ^{Bb} \pm 0,13
		60	4,37 ^{Aa} \pm 0,51	3,09 ^{Ab} \pm 0,59	1,21 ^{Ac} \pm 0,10
2-nonanona	28,64	1	Nd ^C	Nd ^B	Nd ^B
		30	0,16 ^{Bc} \pm 0,02	1,56 ^{Aa} \pm 0,12	1,32 ^{Ab} \pm 0,21
		60	0,35 ^{Ab} \pm 0,06	1,39 ^{Aa} \pm 0,15	1,26 ^{Aa} \pm 0,19
<i>Subtotal Cetonas</i>		1	1,12 ^{Cb} \pm 0,14	1,63 ^{Ca} \pm 0,06	0,97 ^{Cb} \pm 0,17
		30	12,19 ^{Bb} \pm 1,18	14,20 ^{Ba} \pm 1,26	6,75 ^{Bc} \pm 0,59
		60	18,64 ^{Ab} \pm 1,74	28,39 ^{Aa} \pm 3,95	15,68 ^{Ab} \pm 1,40
<i>Ésteres</i>					
Acetato de etilo	12,54	1	0,64 ^{Bc} \pm 0,12	1,32 ^{Ab} \pm 0,23	3,79 ^{Aa} \pm 0,77
		30	0,72 ^{Bb} \pm 0,07	0,87 ^{Ba} \pm 0,08	0,93 ^{Ba} \pm 0,11
		60	1,01 ^{Aa} \pm 0,17	0,39 ^{Cb} \pm 0,07	0,28 ^{Bb} \pm 0,03
Butanoato de etilo	17,27	1	Nd ^B	Nd ^B	Nd
		30	Nd ^B	Nd ^B	Nd
		60	1,85 ^{Ab} \pm 0,09	2,86 ^{Aa} \pm 0,50	Nd ^c
Hexanoato de etilo	23,28	1	Nd ^C	Nd ^B	Nd ^C
		30	0,16 ^{Bb} \pm 0,01	0,41 ^{Aa} \pm 0,05	0,19 ^{Bb} \pm 0,04
		60	0,26 ^{Ab} \pm 0,03	0,40 ^{Aa} \pm 0,06	0,27 ^{Ab} \pm 0,04
<i>Subtotal Ésteres</i>		1	0,64 ^{Cc} \pm 0,12	1,32 ^{Bb} \pm 0,23	3,79 ^{Aa} \pm 0,77
		30	0,88 ^{Bc} \pm 0,06	1,28 ^{Ba} \pm 0,10	1,11 ^{Bb} \pm 0,11
		60	3,12 ^{Aa} \pm 0,20	3,65 ^{Aa} \pm 0,60	0,55 ^{Bb} \pm 0,06

Tabla 6.5. (Continuación)

	TR ¹	Día	Quesos ²		
			QEm	QPm	QUHCm
<i>Alcoholes</i>					
Etanol	13,98	1	1,00 ^{Cb} ± 0,07	1,93 ^{Aa} ± 0,40	1,91 ^{Aa} ± 0,31
		30	1,62 ^{Ba} ± 0,26	1,26 ^{Bb} ± 0,07	0,74 ^{Bc} ± 0,08
		60	2,17 ^{Aa} ± 0,34	1,10 ^{Bb} ± 0,08	0,32 ^{Cc} ± 0,02
1-butanol	21,00	1	Nd ^C	Nd ^B	Nd ^B
		30	0,21 ^{Bb} ± 0,03	0,58 ^{Aa} ± 0,07	0,49 ^{Aa} ± 0,06
		60	0,45 ^{Aa} ± 0,05	0,52 ^{Aa} ± 0,10	0,46 ^{Aa} ± 0,08
3-metil-1-butanol	23,00	1	Nd	Nd ^B	Nd ^B
		30	Nd	Nd ^B	Nd ^B
		60	Nd ^c	0,39 ^{Aa} ± 0,02	0,34 ^{Ab} ± 0,03
1-pentanol	24,20	1	Nd ^b	Nd ^b	0,09 ^{Ba} ± 0,02
		30	Nd ^b	Nd ^b	0,26 ^{Aa} ± 0,05
		60	Nd ^b	Nd ^b	0,32 ^{Aa} ± 0,05
2-butoxietanol	29,33	1	Nd	Nd ^B	Nd ^B
		30	Nd ^c	0,50 ^{Aa} ± 0,06	0,25 ^{Ab} ± 0,04
		60	Nd	Nd ^B	Nd ^B
<i>Subtotal alcoholes</i>		1	1,01 ^{Cb} ± 0,07	1,93 ^{Aa} ± 0,40	2,01 ^{Aa} ± 0,30
		30	1,84 ^{Bb} ± 0,27	2,34 ^{Aa} ± 0,15	1,74 ^{ABb} ± 0,14
		60	2,61 ^{Aa} ± 0,37	2,01 ^{Ab} ± 0,13	1,43 ^{Bc} ± 0,11
<i>Terpenos</i>					
β-pineno	21,46	1	Nd ^C	Nd ^C	Nd ^B
		30	0,24 ^{Bc} ± 0,02	0,93 ^{Ba} ± 0,05	0,78 ^{Ab} ± 0,09
		60	0,94 ^{Ab} ± 0,10	1,36 ^{Aa} ± 0,20	0,80 ^{Ab} ± 0,13
β-mirceno	21,66	1	Nd ^B	Nd ^C	Nd ^B
		30	Nd ^{Bb}	0,37 ^{Aa} ± 0,05	Nd ^{Bb}
		60	0,31 ^{Aa} ± 0,04	0,35 ^{Aa} ± 0,06	0,30 ^{Aa} ± 0,02
Limoneno	22,76	1	0,16 ^{Ca} ± 0,02	0,06 ^{Cb} ± 0,01	0,15 ^{Ba} ± 0,02
		30	2,18 ^{Bb} ± 0,39	3,40 ^{Ba} ± 0,37	1,87 ^{Ab} ± 0,09
		60	4,41 ^{Ab} ± 0,72	6,73 ^{Aa} ± 0,93	2,09 ^{Ac} ± 0,41
<i>Subtotal Terpenos</i>		1	0,16 ^{Ca} ± 0,02	0,06 ^{Cb} ± 0,01	0,15 ^{Ca} ± 0,02
		30	2,42 ^{Bb} ± 0,37	4,69 ^{Ba} ± 0,38	2,64 ^{Bb} ± 0,16
		60	5,65 ^{Ab} ± 0,77	8,43 ^{Aa} ± 0,89	3,18 ^{Ac} ± 0,51

Tabla 6.5. (Continuación)

	TR ¹	Día	Quesos ²		
			QEm	QPm	QUHCm
Ácidos					
Ácido acético	30,07	1	0,13 ^{Cb} ± 0,08	0,38 ^{Ca} ± 0,07	0,47 ^{Ba} ± 0,09
		30	3,09 ^{Ba} ± 0,56	1,52 ^{Bb} ± 0,22	0,91 ^{Ac} ± 0,13
		60	4,56 ^{Aa} ± 0,89	3,73 ^{Aa} ± 0,59	0,89 ^{Ab} ± 0,14
Ácido propanoico	32,78	1	Nd ^C	Nd ^C	Nd
		30	0,34 ^{Bb} ± 0,06	0,76 ^{Ba} ± 0,12	Nd ^c
		60	0,77 ^{Ab} ± 0,14	1,14 ^{Aa} ± 0,07	0,15 ^{Ac} ± 0,02
Ácido isobutírico	33,11	1	Nd ^C	Nd ^B	Nd ^C
		30	0,61 ^{Bb} ± 0,05	1,19 ^{Aa} ± 0,12	0,41 ^{Bc} ± 0,08
		60	1,53 ^{Aa} ± 0,16	1,07 ^{Ab} ± 0,12	0,52 ^{Ac} ± 0,08
Ácido butanoico	34,61	1	0,19 ^{Cb} ± 0,03	0,24 ^{Bb} ± 0,05	0,49 ^{Ba} ± 0,09
		30	6,88 ^{Bb} ± 0,64	10,05 ^{Aa} ± 1,21	3,23 ^{Ac} ± 0,34
		60	17,10 ^{Aa} ± 1,19	11,01 ^{Ab} ± 0,84	3,03 ^{Ac} ± 0,45
Ácido 3-metilbutanoico	35,64	1	Nd ^C	Nd ^C	Nd ^B
		30	1,62 ^{Ba} ± 0,07	1,84 ^{Ba} ± 0,27	1,14 ^{Ab} ± 0,08
		60	4,18 ^{Aa} ± 0,54	2,51 ^{Ab} ± 0,31	1,07 ^{Ac} ± 0,10
Ácido pentanoico	37,27	1	Nd ^B	Nd ^B	Nd ^B
		30	0,30 ^{Aa} ± 0,04	0,30 ^{Aa} ± 0,04	0,22 ^{Ab} ± 0,02
		60	0,32 ^{Aa} ± 0,04	0,32 ^{Aa} ± 0,03	0,24 ^{Ab} ± 0,04
Ácido hexanoico	39,71	1	0,22 ^{Cb} ± 0,04	0,22 ^{Cb} ± 0,02	0,63 ^{Ba} ± 0,12
		30	2,89 ^{Bb} ± 0,60	4,98 ^{Ba} ± 0,48	1,68 ^{Ac} ± 0,09
		60	5,91 ^{Aa} ± 0,67	6,67 ^{Aa} ± 1,03	1,50 ^{Ab} ± 0,27
Ácido octanoico	44,73	1	Nd ^{Cc}	0,25 ^{Cb} ± 0,04	0,39 ^{Ba} ± 0,06
		30	0,75 ^{Bab} ± 0,14	0,93 ^{Ba} ± 0,08	0,69 ^{Ab} ± 0,12
		60	1,11 ^{Ab} ± 0,08	1,37 ^{Aa} ± 0,02	0,56 ^{Ac} ± 0,08
<i>Subtotal Ácidos</i>		1	0,54 ^{Cc} ± 0,13	1,08 ^{Cb} ± 0,15	1,98 ^{Ba} ± 0,34
		30	16,46 ^{Bb} ± 0,72	21,56 ^{Ba} ± 1,65	8,27 ^{Ac} ± 0,67
		60	35,49 ^{Aa} ± 3,29	27,82 ^{Ab} ± 2,77	7,96 ^{Ac} ± 1,04
Aldehídos					
Nonanal	28,80	1	Nd	Nd ^B	Nd
		30	Nd ^b	0,15 ^{Aa} ± 0,01	Nd ^b
		60	Nd ^b	0,16 ^{Aa} ± 0,01	Nd ^b
Benzaldehído	32,81	1	0,07 ^{Cb} ± 0,01	0,26 ^{Ba} ± 0,02	0,24 ^{Ba} ± 0,04
		30	0,35 ^{Bb} ± 0,02	0,33 ^{Ab} ± 0,02	0,45 ^{Aa} ± 0,07
		60	0,33 ^{Ab} ± 0,07	0,31 ^{Ab} ± 0,03	0,48 ^{Aa} ± 0,07
<i>Subtotal</i>		1	0,07 ^{Bb} ± 0,01	0,26 ^{Ba} ± 0,02	0,24 ^{Ba} ± 0,04
<i>Aldehídos</i>		30	0,35 ^{Ab} ± 0,02	0,48 ^{Aa} ± 0,03	0,45 ^{Aa} ± 0,07
		60	0,33 ^{Ab} ± 0,07	0,47 ^{Aa} ± 0,03	0,48 ^{Aa} ± 0,07

Tabla 6.5. (Continuación)

	TR ¹	Día	Quesos ²		
			QEm	QPm	QUHCm
<i>Hidrocarburos aromáticos</i>					
Tolueno	17,57	1	Nd ^C	Nd ^C	Nd ^C
		30	0,83 ^{Bb} ± 0,10	1,13 ^{Ba} ± 0,08	1,36 ^{Ba} ± 0,22
		60	1,47 ^{Aab} ± 0,29	1,38 ^{Ab} ± 0,21	1,83 ^{Aa} ± 0,19
Etilbenceno	20,50	1	0,13 ^{Bc} ± 0,03	0,62 ^{Aa} ± 0,10	0,26 ^{Bb} ± 0,04
		30	0,16 ^{Bc} ± 0,02	0,44 ^{Ba} ± 0,06	0,26 ^{Bb} ± 0,03
		60	0,28 ^{Ac} ± 0,03	0,37 ^{Bb} ± 0,05	0,47 ^{Aa} ± 0,06
p-Xileno	20,79	1	Nd ^B	Nd ^C	Nd ^B
		30	Nd ^{Bb}	0,35 ^{Aa} ± 0,03	Nd ^{Bb}
		60	0,23 ^{Aa} ± 0,03	0,27 ^{Ba} ± 0,05	0,28 ^{Aa} ± 0,05
o-Xileno	22,50	1	Nd	Nd	Nd ^C
		30	Nd ^b	Nd ^b	0,17 ^{Ba} ± 0,02
		60	Nd ^b	Nd ^b	1,57 ^{Aa} ± 0,22
Estireno	24,70	1	Nd ^C	Nd ^B	Nd ^C
		30	0,62 ^{Bc} ± 0,12	1,60 ^{Aa} ± 0,13	1,19 ^{Bb} ± 0,13
		60	1,01 ^{Ab} ± 0,07	1,89 ^{Aa} ± 0,37	1,62 ^{Aa} ± 0,24
1,2,4-trimetilbenceno	25,63	1	Nd	Nd	Nd ^C
		30	Nd ^b	Nd ^b	0,10 ^{Ba} ± 0,01
		60	Nd ^b	Nd ^b	0,13 ^{Aa} ± 0,02
1,4-diclorobenceno	29,75	1	Nd ^C	Nd ^B	Nd ^B
		30	0,25 ^{Bb} ± 0,01	0,90 ^{Aa} ± 0,05	0,84 ^{Aa} ± 0,11
		60	0,67 ^{Aa} ± 0,07	0,79 ^{Aa} ± 0,11	0,71 ^{Aa} ± 0,14
<i>Subtotal</i>		<i>1</i>	<i>0,13^{Cc} ± 0,03</i>	<i>0,62^{Ba} ± 0,10</i>	<i>0,26^{Cb} ± 0,04</i>
<i>Hidrocarburos aromáticos</i>		<i>30</i>	<i>1,86^{Bb} ± 0,21</i>	<i>4,41^{Aa} ± 0,25</i>	<i>3,92^{Ba} ± 0,45</i>
		<i>60</i>	<i>3,66^{Ac} ± 0,41</i>	<i>4,69^{Ab} ± 0,58</i>	<i>6,61^{Aa} ± 0,63</i>
Total		1	3,66^{Cc} ± 0,23	6,89^{Cb} ± 0,37	9,41^{Ca} ± 1,12
		30	35,99^{Bb} ± 2,40	48,95^{Ba} ± 2,44	24,87^{Bc} ± 1,71
		60	69,49^{Aa} ± 5,76	75,45^{Aa} ± 8,14	35,89^{Ab} ± 3,22

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B, C) indican diferencias para cada parámetro entre los días de almacenamiento (P < 0,05).

Nd: No detectado.

¹Tiempo de retención (min).

²QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, Ti = 40 °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

Los caracteres en cursiva se usan para cantidades de subtotales de compuestos volátiles agrupados por familia química (cetonas, ésteres, alcoholes, terpenos, ácidos, aldehídos e hidrocarburos aromáticos), y en negrita para la cantidad total de compuestos volátiles.

El benzaldehído fue el único aldehído detectado en los quesos QEm y QUHCm, en este último con mayor abundancia. El QPm también presentó nonanal a los 30 y 60 días de maduración. El queso entero mostró los valores más bajos de aldehídos, no habiendo diferencias significativas entre los dos quesos reducidos.

En los quesos QUHCm se detectaron 7 hidrocarburos aromáticos, no obstante, sólo cinco en los quesos QEm y QPm, debido a la ausencia o no detección de o-xileno ni 1,2,4-trimetilbenceno. A día 1 de maduración los quesos reducidos en grasa presentaron la mayor abundancia de terpenos, debido al mayor contenido de etilbenceno. Sin embargo, a los 60 días de maduración los quesos con mayor abundancia fueron los QUHCm, debido a la presencia de los dos compuestos no detectados en los otros quesos. El queso entero presentó los valores más bajos en todos los días de maduración.

En general, parece que la reducción de grasa de la leche produjo un aumento de los compuestos volátiles a los días 1 y 30 de maduración, comparándolo con los quesos elaborados con leche entera. Sin embargo, el perfil volátil fue similar a los 60 días de maduración. Por otro lado, la elaboración de quesos reducidos en grasa mediante la incorporación de nata tratada por UHPH a la leche de quesería incrementó la abundancia de compuestos volátiles a día 1. No obstante, a los 30 y 60 días de maduración, fueron los quesos con menor abundancia, lo que se podría atribuir con un menor aroma de los quesos. La menor abundancia de compuestos volátiles totales en QUHCm podría ser debido a la mayor inactivación de las enzimas en la nata tratada por UHPH en comparación a la tratada por pasteurización, y posiblemente por la dificultad de acceso de las enzimas a la estructura lipoproteica del QUHCm debido al buen recubrimiento proteico de su estructura.

6.3.6. Análisis instrumental y sensorial

6.3.6.1. Color

Los resultados del análisis del color instrumental de los quesos se muestran en la Tabla 6.6. En general, el color de los quesos es influenciado por muchos factores tales como el contenido de pigmentos de la leche como el β -caroteno, la actividad bioquímica de la microflora nativa de la leche, los procesos tecnológicos y las técnicas de maduración (Rohm y Jaros, 1997; Marchesini *et al.*, 2009).

La reducción de grasa de la leche de fabricación quesera disminuyó los valores de L^* , a^* y b^* . Está descrito que a medida que se reduce el contenido de grasa de los quesos, se

reduce el número de centros de dispersión de la luz y los quesos bajos en grasa se vuelven algo opacos (Johnson *et al.*, 2009). La disminución de los valores de a^* y b^* es debido a la reducción del nivel de β -carotenos (responsable del color amarillo de la grasa) con el desnatado de la leche. Johnson *et al.* (2009) y Deegan y McSweeney (2013) también observaron una coloración menos amarillenta en quesos bajos en grasa. Póltorak *et al.* (2015) también observaron disminuciones del valor de a^* en quesos Gouda reducidos en grasa y fueron asociados a un descenso en los componentes lipídicos en el queso.

En general, los quesos reducidos en grasa elaborados con nata UHPH, respecto a los QPm, presentaron valores de L^* más elevados, aunque solo significativos a los 30 y 60 días, valores de a^* más bajos (tonalidades más verdosas), mientras que el parámetro b^* de color fue similar para ambos quesos excepto a los 60 días de maduración que fue más bajo en el QUHCm. El valor mayor de luminosidad del QUHCm a los 30 y 60 días de maduración, se podría explicar por el mayor número de glóbulos de grasa de menor tamaño producidos por el tratamiento UHPH, aumentando así los centros de dispersión de luz, y por la adición de 1,5% de caseinato de sodio a la nata tratada por UHPH que también influiría en el valor de L^* del queso debido a su naturaleza blanqueante (Modler, 1985). Zamora *et al.* (2011) describieron resultados similares en quesos frescos elaborados a partir de leche tratada por UHPH, resultados que fueron atribuidos a la pérdida de dispersión de la luz de los glóbulos de grasa debido a la reducción drástica de su tamaño por el tratamiento UHPH.

Durante la maduración de los quesos, los valores de L^* disminuyeron, mientras que los de a^* y b^* incrementaron. Otros autores (Rohm y Jaros, 1997; Marchesini *et al.*, 2009) también han descrito disminuciones del valor de L^* en queso durante su maduración atribuyendo los resultados a la pérdida de agua y aumento del contenido de proteína cruda durante la maduración. Rohm y Jaros (1997) también observaron incrementos de los valores de a^* y b^* durante la maduración siendo atribuido principalmente a la concentración de β -carotenos y el contenido de materia seca.

De acuerdo con los criterios de diferencia de color (ΔE) de Nedomová *et al.* (2017) los intervalos de 1,5-3,0 y 3,0-6,0 corresponden a una diferencia de color “claramente apreciable” y “notable”, respectivamente. En nuestro estudio, los quesos madurados reducidos en grasa, respecto al QEm, presentaron diferencias de color claramente apreciables al día 1 y 30 de maduración, mientras que a los 60 días las diferencias fueron notables.

Tabla 6.6. Medidas de color instrumental de los quesos durante la maduración.

Propiedad	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
L*	1	93,95 ^{Aa} ± 0,77	92,62 ^{Ab} ± 0,80	93,11 ^{Ab} ± 1,21
	30	91,86 ^{Ba} ± 0,45	90,17 ^{Bb} ± 0,80	91,89 ^{Ba} ± 1,26
	60	90,01 ^{Cb} ± 0,89	85,51 ^{Cc} ± 0,67	91,08 ^{Ca} ± 1,05
a*	1	0,77 ^{Ca} ± 0,19	0,11 ^{Cb} ± 0,07	-0,22 ^{Cc} ± 0,14
	30	1,49 ^{Ba} ± 0,23	0,54 ^{Bb} ± 0,07	0,25 ^{Bc} ± 0,09
	60	1,73 ^{Aa} ± 0,20	0,96 ^{Ab} ± 0,15	0,45 ^{Ac} ± 0,10
b*	1	13,57 ^{Ca} ± 1,10	12,00 ^{Cb} ± 0,99	11,74 ^{Cb} ± 1,23
	30	15,57 ^{Ba} ± 0,58	13,26 ^{Bb} ± 0,86	13,51 ^{Bb} ± 0,83
	60	18,95 ^{Aa} ± 1,45	16,35 ^{Ab} ± 0,65	14,70 ^{Ac} ± 1,18
ΔE ²	1	-	2,16	2,25
	30	-	3,00	2,40
	60	-	5,25	4,56

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B, C) indican diferencias para cada parámetro entre los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

²ΔE: diferencia de color de los QPm y QUHCm frente al queso QEm.

6.3.6.2. Análisis de perfil de textura (TPA)

La media de los valores del análisis de textura instrumental de los quesos por ensayo del perfil de textura se muestra en la Tabla 6.7. En general, la reducción de grasa de la leche de fabricación quesera incrementó la dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad del queso, observándose una disminución de la adhesividad. Otros autores también han descrito incrementos de dureza en quesos reducidos en grasa (Banks *et al.*, 1989; Bryant *et al.*, 1995; Fenelon y Guinee, 2000; Gwartney *et al.*, 2002; Awad *et al.*, 2005; Lteif *et al.*, 2009; Amelia *et al.*, 2013; Póltorak *et al.*, 2015) atribuyéndolo principalmente al incremento de la proteína en la matriz del queso. El incremento de elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad mediante la reducción de grasa también ha sido observada en quesos Cheddar (Bryant *et al.*, 1995), Halloumi (Lteif *et al.*, 2009) y diversos quesos comerciales (Gwartney *et al.*, 2002) debido a la menor cantidad de glóbulos grasos dispersos en la matriz proteica. Igualmente, fue descrita una menor

adhesividad en quesos Cheddar y Halloumi por la reducción de grasa de la leche (Bryant *et al.*, 1995; Lteif *et al.*, 2009).

La adición de caseinato de sodio en la nata y tratamiento de UHPH incrementó la dureza y la gomosidad de los quesos reducidos en grasa, mientras que la elasticidad disminuyó, y la adhesividad, cohesividad y masticabilidad no se vieron influenciadas. La mayor dureza de los QUHCm se podría atribuir a la reducción del tamaño de los glóbulos de grasa obtenidos con el proceso de UHPH aplicado a la nata, generando una matriz proteica más compacta. El tamaño de los glóbulos grasos interfiere físicamente con la integridad de la matriz; glóbulos grandes disminuyen la firmeza del queso, por el contrario, glóbulos pequeños son más difíciles de deformar, constituyendo una matriz más compacta (Kheadr *et al.*, 2002; Everett y Auty, 2008) y por lo tanto más firme y gomosa.

Durante la maduración de los quesos se incrementó la dureza, adhesividad y gomosidad, observándose una disminución de la elasticidad, cohesividad y masticabilidad de todos los quesos. En general, las variaciones de la textura durante la maduración pueden ser atribuidos a una serie de factores tales como la proteólisis de la red de caseína por las enzimas coagulantes (Lucey *et al.*, 2003), incrementando la hidratación de la proteína por absorción del suero de los canales de suero/grasa (McMahon *et al.*, 1999; Guinee, 2011) y solubilización del fosfato de calcio coloidal (Lucey *et al.*, 2003). Los incrementos de dureza durante la maduración de los quesos pueden resultar de la reducción del nivel de agua libre que incrementa la resistencia a la deformación del queso (McMahon *et al.*, 1999), siendo los cambios de dureza de los quesos proporcionales a los de gomosidad durante la maduración (Bourne, 1982; Irudayaraj *et al.*, 1999) y se correlacionan según Awad *et al.* (2005) con la disminución de la masticabilidad (quesos más duros son difíciles de masticar). Otros autores también han descrito incrementos de adhesividad durante la maduración de los quesos (Bryant *et al.*, 1995; Koca y Metin, 2004; Karaman y Akalın, 2013) y lo han atribuido a la mayor concentración de grasa, materia seca y degradación de las proteínas. La adhesividad durante la maduración es fuertemente influenciada por el contenido de proteínas (Chen *et al.*, 1979) y aumenta con la creciente capacidad de interactuar con el agua (Pastorino *et al.*, 2003). Las disminuciones de la elasticidad durante la maduración de los quesos pueden deberse a la hidrólisis de las moléculas de proteína del queso por acción enzimática (Awad *et al.*, 2005) y la disminución de la cohesividad también puede explicarse por la desorganización de la matriz proteica debido al proceso de proteólisis (Irudayaraj *et al.*, 1999).

Tabla 6.7. Análisis instrumental del perfil de textura (TPA) de los quesos durante la maduración.

Propiedad	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm	QUHCm
Dureza (N)	1	34,72 ^{Cc} ± 8,49	72,48 ^{Cb} ± 10,31	103,61 ^{Ca} ± 11,03
	30	66,75 ^{Bc} ± 9,30	111,26 ^{Bb} ± 10,82	159,44 ^{Ba} ± 15,56
	60	75,13 ^{Ac} ± 12,29	131,56 ^{Ab} ± 15,77	212,01 ^{Aa} ± 16,59
Adhesividad (N × s)	1	0,40 ^{Ca} ± 0,15	0,08 ^{Cc} ± 0,06	0,15 ^{Bb} ± 0,06
	30	1,66 ^{Ba} ± 0,66	0,83 ^{Bb} ± 0,40	0,85 ^{Ab} ± 0,22
	60	1,91 ^{Aa} ± 0,61	1,05 ^{Ab} ± 0,37	1,03 ^{Ab} ± 0,39
Elasticidad (-)	1	0,51 ^{Ac} ± 0,08	0,84 ^{Aa} ± 0,08	0,77 ^{Ab} ± 0,11
	30	0,34 ^{Bc} ± 0,11	0,56 ^{Ba} ± 0,14	0,43 ^{Bb} ± 0,10
	60	0,35 ^{Bb} ± 0,08	0,43 ^{Ca} ± 0,12	0,40 ^{Bab} ± 0,12
Cohesividad (-)	1	0,25 ^{Ab} ± 0,04	0,32 ^{Aa} ± 0,07	0,30 ^{Aa} ± 0,04
	30	0,19 ^{Bb} ± 0,02	0,22 ^{Ba} ± 0,04	0,23 ^{Ba} ± 0,02
	60	0,16 ^{Cb} ± 0,01	0,21 ^{Ba} ± 0,04	0,23 ^{Ba} ± 0,01
Gomosidad (N)	1	9,23 ^{Bb} ± 2,70	23,24 ^{Ba} ± 8,17	24,73 ^{Ca} ± 8,73
	30	12,24 ^{Ac} ± 2,45	23,28 ^{Bb} ± 3,96	38,27 ^{Ba} ± 7,29
	60	12,44 ^{Ac} ± 1,74	25,86 ^{Ab} ± 5,77	52,28 ^{Aa} ± 7,68
Masticabilidad (N)	1	4,53 ^{Ab} ± 1,81	22,38 ^{Aa} ± 6,08	22,60 ^{Aa} ± 6,48
	30	4,13 ^{Ab} ± 1,19	18,23 ^{Ba} ± 6,87	16,88 ^{Ba} ± 2,83
	60	3,79 ^{Ac} ± 0,81	12,01 ^{Cb} ± 3,90	17,30 ^{Ba} ± 2,42

Los valores representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos, o en las columnas (A, B, C) indican diferencias para cada parámetro entre los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

6.3.6.3. Análisis sensorial

Los atributos sensoriales de color, aroma, sabor y textura de los quesos durante la maduración se muestran en la Tabla 6.8. Los panelistas identificaron para la mayoría de los parámetros sensoriales evaluados diferencias mínimas (valores $\leq \pm 1$) en los quesos QEm y QUHCm en comparación al queso control (QPm), excepto para el color a los días 30 y 60 de maduración y la dureza y elasticidad a los 30 días en el QUHCm, y de sabor a los 30 días en el QEm, que presentaron diferencias notables (valores $\geq \pm 1 \leq \pm 2$). Los QUHCm fueron valorados por el panel como los quesos más blancos, resultados que

coinciden con las medidas de color instrumental (Tabla 6.6), los menos aromáticos y de intensidad de sabor intermedio entre el QEm, que fue el que presentó mayor intensidad de sabor, y el QPm. Estos quesos también presentaron una acidez intermedia entre el QEm, que fue descrito como el más ácido, y el control, y unos valores de amargor y regusto similar al QEm pero superior al control. La baja intensidad del aroma en QUHCm podría explicarse por la menor abundancia de compuestos volátiles totales a los 30 y 60 días de maduración (Tabla 6.5).

Tabla 6 8. Análisis sensorial de los quesos a 30 y 60 días de maduración.

Parámetro	Día	Quesos ¹		
		QEm	QPm (control)	QUHCm
Color	30	0,50 ^a ± 0,24	0,00 ^a	-1,25 ^b ± 0,24
	60	0,38 ^a ± 0,25	0,00 ^a	-1,13 ^b ± 0,22
Aroma	30	0,66 ^a ± 0,22	0,00 ^b	-0,31 ^b ± 0,23
	60	0,19 ^a ± 0,19	0,00 ^a	-0,69 ^b ± 0,22
Sabor	30	1,28 ^a ± 0,16	0,00 ^b	0,38 ^b ± 0,24
	60	0,72 ^a ± 0,23	0,00 ^b	0,16 ^b ± 0,25
Salado	30	0,47 ^a ± 0,16	0,00 ^b	0,03 ^b ± 0,18
	60	0,38 ^a ± 0,15	0,00 ^b	-0,25 ^b ± 0,13
Ácido	30	0,53 ^a ± 0,25	0,00 ^a	0,22 ^a ± 0,26
	60	1,00 ^a ± 0,21	0,00 ^c	0,50 ^b ± 0,17
Amargo	30	0,25 ^a ± 0,24	0,00 ^a	0,22 ^a ± 0,17
	60	0,16 ^{ab} ± 0,24	0,00 ^b	0,59 ^a ± 0,18
Regusto	30	0,31 ^a ± 0,16	0,00 ^b	0,44 ^a ± 0,17
	60	0,53 ^a ± 0,24	0,00 ^b	0,22 ^{ab} ± 0,13
Dureza	30	-0,56 ^b ± 0,25	0,00 ^b	1,19 ^a ± 0,19
	60	-0,97 ^c ± 0,25	0,00 ^b	0,72 ^a ± 0,23
Elasticidad	30	-0,59 ^a ± 0,26	0,00 ^a	-1,19 ^b ± 0,21
	60	-0,53 ^a ± 0,33	0,00 ^a	-0,22 ^a ± 0,22

Los valores representan promedios ± error estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias para cada parámetro entre tipos de quesos ($P < 0,05$).

¹QEm: queso elaborado con leche al 3,2% de grasa; QPm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata pasteurizada (65 °C por 30 min); QUHCm: queso reducido en grasa elaborado con leche al 1,5% de grasa a la que se le ha adicionado nata tratada por homogeneización a ultra alta presión (300 MPa, $T_i = 40$ °C) con 1,5% de caseinato de sodio.

Los valores negativos y positivos denotan una percepción menor o mayor, respectivamente, frente al queso control (QPm) que es el queso reducido en grasa elaborado con leche a la que se le ha adicionado nata pasteurizada.

Los quesos reducidos en grasa fueron valorados como más duros con respecto al QEm, siendo QUHCm los descritos con mayor dureza. Estos resultados coinciden con los determinados en el análisis de perfil de textura, donde los quesos QUHCm presentaron mayor dureza al día 1, 30 y 60 de maduración, respecto al resto de quesos (Tabla 6.7). Por otro lado, el panel también describió una menor elasticidad en el QUHCm a los 30 días de maduración, mientras que a los 60 días no distinguieron ninguna variación, resultados que también coinciden con el análisis de perfil de textura (Tabla 6.7).

6.4. Conclusiones

La reducción de grasa de la leche de fabricación quesera provocó una disminución del rendimiento quesero y la utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio no lo mejoró, mostrando los mismos valores que los que presentaban la nata pasteurizada.

La reducción de grasa de la leche de quesería ni la homogeneización de la nata por UHPH con adición de caseinato afecta los niveles de proteólisis secundaria ni la oxidación lipídica de los quesos madurados a los 30 y 60 días. Sin embargo, los niveles de lipólisis fueron menores en los quesos reducidos en grasa, viéndose más disminuidos en los quesos elaborados con nata tratada por UHPH. Estos resultados podrían explicarse por la adición de caseinato de sodio que permite una cobertura proteica completa de la superficie de los nuevos glóbulos de grasa, dificultando la actividad de las enzimas lipolíticas.

Asimismo, los quesos elaborados con nata tratada por UHPH más caseinato presentaron menor abundancia de compuestos volátiles a los 30 y 60 días de maduración en comparación a los elaborados con el tratamiento de pasteurización. Estos resultados podrían explicarse por la mayor inactivación de las enzimas en la nata tratada por UHPH en comparación a la tratada por pasteurización, y posiblemente por la dificultad de acceso de las enzimas a la estructura lipoproteica del QUHCm debido al buen recubrimiento proteico de su estructura.

La reducción de grasa de la leche de fabricación quesera provocó una disminución de los valores de L^* , a^* y b^* y la utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato disminuye el valor de a^* e incrementa L^* de los quesos maduros reducidos en grasa a los 30 y 60 días, respecto a la nata tratada por pasteurización. Estos resultados podrían explicarse por el mayor número de glóbulos de grasa de menor tamaño producidos por el tratamiento UHPH, aumentando así los centros de dispersión de luz, y por la adición de

1,5% de caseinato de sodio a la nata tratada por UHPH que también influiría en el valor de la luminosidad del queso debido a su naturaleza blanqueante.

La reducción de grasa de la leche produce modificaciones texturales en los quesos, convirtiéndolos en más duros, elásticos, cohesivos, gomosos y masticables y menos adherentes. La incorporación de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio en la leche de quesería aumenta más la dureza y gomosidad de los quesos reducidos, sin embargo, disminuye la elasticidad obteniendo valores entre los quesos enteros y los reducidos a partir de nata pasteurizada. Los panelistas describieron a estos quesos como más blancos, menos aromáticos y de intensidad de sabor intermedio entre el queso entero, que fue el que presentó mayor intensidad de sabor, y el queso con nata pasteurizada. Estos quesos también presentaron una acidez intermedia entre el queso entero, que fue descrito como el más ácido, y queso reducido en grasa, y unos valores de amargor y regusto similar al queso entero pero superior al queso reducido en grasa. Los resultados descritos en el análisis sensorial de los quesos concuerdan con los obtenidos en el análisis instrumental de color y textura, y análisis de compuestos volátiles.

6.5. Referencias

- Amelia, I., Drake, M., Nelson, B. & Barbano, D.M. (2013). A new method for the production of low-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, **96**, 4870-4884.
- Ardö, Y. (1993). Characterizing Ripening in Low-Fat, Semi-hard Round-Eyed Cheese Made with Undefined Mesophilic DL-Starter. *International Dairy Journal*, **3**, 343-357.
- Awad, S., Hassan, A.N. & Muthukumarappan, K. (2005). Application of exopolysaccharide-producing cultures in reduced-fat Cheddar cheese: Texture and melting properties. *Journal of Dairy Science*, **88**, 4204-4213.
- Banks, J.M., Brechany, E.Y. & Christie, W.W. (1989). The production of low fat Cheddar-type cheese. *Journal of the Society of Dairy Technology*, **42**, 6-9.
- Bourne, M.C. (1982). Texture, Viscosity, and Food. En: *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*, Food Science and Technology (editado por M.C. Bourne). Pp. 1-23. San Diego: Academic Press.
- Bouzas, J., Kantt, C.A., Bodyfelt, F.W. & Torres, J.A. (1993). Time and Temperature Influence on Chemical Aging Indicators for a Commercial Cheddar Cheese. *Journal of Food Science*, **58**, 1307-1312.

- Bryant, A., Ustunol, Z. & Steffe, J. (1995). Texture of Cheddar Cheese as Influenced by Fat Reduction. *Journal of Food Science*, **60**, 1216-1219.
- Chen, A.H., Larkin, J.W., Clark, C.J. & Irwin, W.E. (1979). Textural Analysis of Cheese. *Journal of Dairy Science*, **62**, 901-907.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H. & Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, **13**, 841-866.
- Curioni, P.M.G. & Bosset, J.O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, **12**, 959-984.
- Datta, N., Hayes, M.G., Deeth, H.C. & Kelly, A.L. (2005). Significance of frictional heating for effects of high pressure homogenisation on milk. *Journal of Dairy Research*, **72**, 393-399.
- Deegan, K.C. & McSweeney, P.L.H. (2013). Effects of low-pressure homogenisation pre-treatment of cheesemilk on the ripening of Cheddar cheese. *Dairy Science and Technology*, **93**, 641-655.
- Deeth, H.C. & Fitz-Gerald, C.H. (2006). Lipolytic Enzymes and Hydrolytic Rancidity. En: *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids* (editado por P.F. Fox & P.L.H. McSweeney). Pp. 481-556. Boston, MA: Springer US.
- Dimos, A., Urbach, G.E. & Miller, A.J. (1996). Changes in flavour and volatiles of full-fat and reduced-fat Cheddar cheeses during maturation. *International Dairy Journal*, **6**, 981-995.
- Escobar, D., Clark, S., Ganesan, V., Repiso, L., Waller, J. & Harte, F. (2011). High-pressure homogenization of raw and pasteurized milk modifies the yield, composition, and texture of queso fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, **94**, 1201-10.
- Everett, D.W. & Auty, M.A.E. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, **18**, 759-773.
- Fenelon, M.A. & Guinee, T.P. (2000). Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents. *International Dairy Journal*, **10**, 151-158.
- Fenelon, M.A., O'Connor, P. & Guinee, T.P. (2000). The Effect of Fat Content on the Microbiology and Proteolysis in Cheddar Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Science*, **83**, 2173-2183.

- Foda, E.A., Hammond, E.G., Reinbold, G.W. & Hotchkiss, D.K. (1974). Role of Fat in Flavor of Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, **57**, 1137-1142.
- Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (2004). Cheese: An Overview. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan & T.P. Guinee). Pp. 1-18. London, UK: Elsevier Academic Press.
- Fox, P.F. & McSweeney, P.L.H. (2006). Chemistry and biochemistry of cheese manufacture and ripening. *Food Science and Technology*, **20**, 28-32.
- Gilles, J. & Lawrence, R.C. (1985). The yield of cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, **20**, 205-214.
- Guinee, T.P. (2011). Cheese | Cheese Rheology. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (editado por J.W.B. Fuquay). Pp. 685-697. San Diego: Academic Press.
- Guinee, T.P., Auty, M.A.E. & Fenelon, M.A. (2000). The effect of fat content on the rheology, microstructure and heat-induced functional characteristics of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, **10**, 277-288.
- Gwartney, E.A., Foegeding, E.A. & Larick, D.K. (2002). The Texture of Commercial Full-Fat and Reduced-Fat Cheese. *Journal of Food Science*, **67**, 812-816.
- Holsinger, V.H. (1995). Nutritional Aspects of Reduced-Fat Cheese. En: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese* (editado por E.L. Malin & M.H. Tunick). Pp. 339-344. Boston, MA: Springer US.
- Holsinger, V.H., Smith, P.W. & Tunick, M.H. (1995). Overview: Cheese Chemistry and Rheology. En: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese* (editado por E.L. Malin & M.H. Tunick). Pp. 1-6. Boston, MA: Springer US.
- Huffman, L.M. & Kristoffersen, T. (1984). Role of lactose in Cheddar cheese manufacturing and ripening. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, **19**, 151-162.
- Irudayaraj, J., Chen, M. & McMahon, D.J. (1999). Texture development in Cheddar cheese during ripening. *Canadian Agricultural Engineering*, **41**, 253-258.
- Johnson, M.E., Kapoor, R., McMahon, D.J., McCoy, D.R. & Narasimmon, R.G. (2009). Reduction of Sodium and Fat Levels in Natural and Processed Cheeses: Scientific and Technological Aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **8**, 252-268.
- Juan, B., Zamora, A., Quevedo, J.M. & Trujillo, A.J. (2016). Proteolysis of cheese made from goat milk treated by ultra high pressure homogenisation. *LWT - Food Science and Technology*, **69**, 17-23.

- Karaman, A.D. & Akalın, A.S. (2013). Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream. *LWT - Food Science and Technology*, **50**, 503-510.
- Katsiari, M.C. & Voutsinas, L.P. (1994). Manufacture of low-fat Feta cheese. *Food Chemistry*, **49**, 53-60.
- Kelly, A.L., Huppertz, T. & Sheehan, J.J. (2008). Pre-treatment of cheese milk: principles and developments. *Dairy Science and Technology*, **88**, 549-572.
- Kheadr, E.E., Vachon, J.F., Paquin, P. & Fliss, I. (2002). Effect of dynamic high pressure on microbiological, rheological and microstructural quality of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, **12**, 435-446.
- Koca, N. & Metin, M. (2004). Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal*, **14**, 365-373.
- Lteif, L., Olabi, A., Kebbe Baghdadi, O. & Toufeili, I. (2009). The characterization of the physicochemical and sensory properties of full-fat, reduced-fat, and low-fat ovine and bovine Halloumi. *Journal of Dairy Science*, **92**, 4135-4145.
- Lucey, J.A., Johnson, M.E. & Horne, D.S. (2003). Invited Review: Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. *Journal of Dairy Science*, **86**, 2725-2743.
- Madadlou, A., Mousavi, M.E., Khosrowshahi asl, A., Emam-Djome, Z. & Zargarán, M. (2007). Effect of cream homogenization on textural characteristics of low-fat Iranian White cheese. *International Dairy Journal*, **17**, 547-554.
- Marchesini, G., Balzan, S., Segato, S., Novelli, E. & Andrighetto, I. (2009). Colour traits in the evaluation of the ripening period of Asiago cheese. *Italian Journal of Animal Science*, **8**, 412-413.
- McMahon, D.J., Fife, R.L. & Oberg, C.J. (1999). Water Partitioning in Mozzarella Cheese and Its Relationship to Cheese Meltability. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1361-1369.
- McSweeney, P.L.H. & Fox, P.F. (1997). Indices of Cheddar cheese ripening. En: *5th Cheese symp., Moorepark, Fermoy, Co.* Pp. 73-89. Cork, Ireland.
- McSweeney, P.L.H. & Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, **80**, 293-324.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1994). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 1. Manufacture, Composition,

- and Yield. *Journal of Dairy Science*, **77**, 3506-3515.
- Metzger, L.E. & Mistry, V. V. (1995). A New Approach Using Homogenization of Cream in the Manufacture of Reduced Fat Cheddar Cheese. 2. Microstructure, Fat Globule Distribution, and Free Oil. *Journal of Dairy Science*, **78**, 1883-1895.
- Michaelidou, A., Katsiari, M.C., Kondyli, E., Voutsinas, L.P. & Alichanidis, E. (2003). Effect of a commercial adjunct culture on proteolysis in low-fat Feta-type cheese. *International Dairy Journal*, **13**, 179-189.
- Mistry, V. V. (2001). Low fat cheese technology. *International Dairy Journal*, **11**, 413-422.
- Modler, H.W. (1985). Functional Properties of Nonfat Dairy Ingredients - A Review. Modification of Products Containing Casein. *Journal of Dairy Science*, **68**, 2195-2205.
- Moio, L. & Addeo, F. (1998). Grana Padano cheese aroma. *Journal of Dairy Research*, **65**, 317-333.
- Molimard, P. & Spinnler, H.E. (1996). Review: Compounds Involved in the Flavor of Surface Mold-Ripened Cheeses: Origins and Properties. *Journal of Dairy Science*, **79**, 169-184.
- Nair, M.G., Mistry, V. V. & Oommen, B.S. (2000). Yield and functionality of Cheddar cheese as influenced by homogenization of cream. *International Dairy Journal*, **10**, 647-657.
- Nedomová, Š., Kilián, L., Pytel, R. & Kumbár, V. (2017). Effect of ripening time on colour and texture properties in cheese. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, **11**, 296-301.
- O'Brien, N.M. & O'Connor, T.P. (2004). Nutritional Aspects of Cheese. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (editado por P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan & T.P. Guinee). Pp. 573-581. London, UK: Elsevier Academic Press.
- Olson, N.F. & Johnson, E. (1990). Light Cheese Products: Characteristics and Economics. *Food Technology*, **44**, 90-93.
- Pastorino, A.J., Hansen, C.L. & McMahon, D.J. (2003). Effect of salt on structure-function relationships of cheese. *Journal of Dairy Science*, **86**, 60-69.
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2008). Effects of ultra-high-pressure homogenization treatment on the lipolysis and lipid oxidation of milk during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 7125-7130.

- Poduval, V.S. & Mistry, V. V. (1999). Manufacture of Reduced Fat Mozzarella Cheese Using Ultrafiltered Sweet Buttermilk and Homogenized Cream. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1-9.
- Półtorak, A., Wyrwisz, J., Moczowska, M., Marcinkowska-Lesiak, M., Stelmasiak, A., Ulanicka, U., Zalewska, M., Wierzbicka, A. & Sun, D.-W. (2015). Correlation between instrumental texture and colour quality attributes with sensory analysis of selected cheeses as affected by fat contents. *International Journal of Food Science & Technology*, **50**, 999-1008.
- Rank, T.C., Grappin, R. & Olson, N.F. (1985). Secondary Proteolysis of Cheese During Ripening: A Review. *Journal of Dairy Science*, **68**, 801-805.
- Reglamento CE 1924. (2006). Comunidad Europea (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo del 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y propiedades saludables en los alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 9-25.
- Rohm, H. & Jaros, D. (1997). Colour of hard cheese 2. Factors of influence and relation to compositional parameters. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **204**, 259–264.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Guo, M.R. & Kindstedt, P.S. (1998). Effect of the Modification of Fat Particle Size by Homogenization on Composition, Proteolysis, Functionality, and Appearance of Reduced Fat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **81**, 2065-2076.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Yun, J.J. & Kindstedt, P.S. (1999). Effect of Fat Reduction on Chemical Composition, Proteolysis, Functionality, and Yield of Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, **82**, 661-672.
- Sousa, M.J., Ardö, Y. & McSweeney, P.L.H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, **11**, 327-345.
- Sundar, R. & Upadhyay, K.G. (1990). Effects of standardization of buffalo milk for casein/fat ratio on Mozzarella cheese composition and cheese making efficiency. *Indian Journal of Dairy Science*, **43**, 588-597.
- Trujillo, A.J., Roig-Sagués, A.X., Zamora, A. & Ferragut, V. (2016). High-Pressure Homogenization for Structure Modification. En: *Innovative Food Processing Technologies* (editado por K. Knoerzer, P. Juliano & G. Smithers). Pp. 315-344. UK: Woodhead Publishing.
- Ustunol, Z., Kawachi, K. & Steffe, J. (1995). Rheological properties of Cheddar cheese as influenced by fat reduction and ripening time. *Journal of Food Science*, **60**, 1208-

1210.

- Walstra, P., Wouters, J.T.M. & Geurts, T.J. (2006). *Dairy Science and Technology*. 2nd edn. Boca Raton: CRC Press LLC. Taylor & Francis Group.
- Zamora, A., Ferragut, V., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012a). Changes in the surface protein of the fat globules during ultra-high pressure homogenisation and conventional treatments of milk. *Food Hydrocolloids*, **29**, 135-143.
- Zamora, A., Ferragut, V., Juan, B., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2011). Effect of ultra-high pressure homogenisation of milk on the texture and water-typology of a starter-free fresh cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **12**, 484-490.
- Zamora, A., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B. & Trujillo, A.J. (2012b). Ultra-high pressure homogenisation of milk: technological aspects of cheese-making and microbial shelf life of a starter-free fresh cheese. *Journal of Dairy Research*, **79**, 168-175.

Capítulo 7

Capítulo 7. CONCLUSIONES FINALES

1. El tratamiento de homogeneización a ultra-alta presión (UHPH, 300 MPa y $T_i = 40$ °C) de la nata adicionada a leche desnatada modificó de manera similar al tratamiento de homogeneización-pasteurización convencional (15 MPa, 65 °C por 30 min) las propiedades de coagulación enzimática de la leche, disminuyendo la velocidad de agregación micelar y la firmeza del gel, en comparación a la leche añadida de nata pasteurizada, que podría explicarse por la formación de partículas lipoproteicas debido al tratamiento de UHPH, las cuales al formar la red tridimensional del gel actuarían como núcleos ablandadores produciendo geles más blandos.
2. La utilización de nata tratada por UHPH mejoró el rendimiento quesero potencial de las leches de quesería en comparación al tratamiento de homogeneización-pasteurización convencional, alcanzando la leche (1,5% grasa) adicionada de nata tratada por UHPH en presencia de caseinato de sodio al 1,5% rendimientos similares a los obtenidos a partir de leche con un 3,2% de grasa. Estos resultados podrían explicarse por la microestructura desarrollada en los geles enzimáticos producidos a partir de leche desnatada adicionada de nata tratada por UHPH en presencia de caseinato de sodio, produciendo una microestructura tipo mosaico a base de agregados lipoproteicos que incorporan y retienen la mayoría de los componentes de la leche de quesería.
3. La utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio en la leche de fabricación quesera produjo quesos frescos reducidos en grasa con menor lipólisis y oxidación lipídica, y con mayor capacidad de retención de agua en comparación a los quesos elaborados a partir de nata tratada por homogeneización-pasteurización. Estos resultados podrían explicarse por la ausencia de fenómenos de floculación en las natas tratadas por UHPH debido al recubrimiento completo de las superficies de los nuevos glóbulos de grasa por la proteína añadida que los protegería del deterioro por agentes externos, y por la gran capacidad de retención de agua del caseinato de sodio.
4. Los tratamientos de homogeneización (convencional y UHPH) y pasteurización de la nata y la incorporación de ésta en la leche de quesería para la elaboración de

quesos frescos reducidos en grasa no tienen influencia en la calidad microbiológica de los quesos elaborados.

5. La utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio en la leche de fabricación quesera produce quesos frescos reducidos en grasa con aptitudes sensoriales más parecidas a los quesos elaborados con leche entera. Los panelistas no indicaron diferencias de color ni aroma ni de aroma y describieron a los QUHCf como de buen sabor, de mayor sensación acuosa en boca y de textura suave y homogénea, mientras que para los quesos elaborados a partir de nata homogeneizada-pasteurizada y UHPH sin adición de caseinato, fueron descritos como los quesos más duros, de textura granulosa y poco húmeda, resultados que concuerdan con los valores de humedad, análisis instrumental de color y textura, y análisis de compuestos volátiles de los quesos.
6. La utilización de nata tratada por UHPH adicionada de caseinato de sodio reduce los niveles de lipólisis de los quesos madurados en comparación al tratamiento de pasteurización. Estos resultados podrían explicarse por la adición de caseinato de sodio que permite una cobertura proteica completa de la superficie de los nuevos glóbulos de grasa, dificultando la actividad de las enzimas lipolíticas.
7. La reducción de grasa de la leche de fabricación quesera ni la homogeneización de la nata por UHPH con adición de caseinato de sodio afecta los niveles de la oxidación lipídica y de proteólisis secundaria de los quesos maduros a los 30 y 60 días. Asimismo, los quesos elaborados con nata tratada por UHPH mas caseinato presentaron menor abundancia de compuestos volátiles a los 30 y 60 días de maduración en comparación a los elaborados con el tratamiento de pasteurización. Estos resultados podrían explicarse por la mayor inactivación de las enzimas en la nata tratada por UHPH en comparación a la tratada por pasteurización, y posiblemente por la dificultad de acceso de las enzimas a la estructura lipoproteica del QUHCm debido al buen recubrimiento proteico de su estructura.
8. La utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio incrementa la luminosidad de los quesos maduros reducidos en grasa a los 30 y 60 días, respecto a la nata tratada por pasteurización. Estos resultados podrían explicarse por el mayor número de glóbulos de grasa de menor tamaño producidos

por el tratamiento UHPH, aumentando así los centros de dispersión de luz, y por la adición de 1,5% de caseinato de sodio a la nata tratada por UHPH que también influiría en el valor de la luminosidad del queso debido a su naturaleza blanqueante. Los quesos madurados reducidos en grasa, respecto al queso entero, presentaron diferencias de color claramente apreciables a los días 1 y 30 de maduración, mientras que a los 60 días las diferencias fueron notables.

9. La utilización de nata tratada por UHPH con adición de caseinato de sodio en la leche de quesería produce quesos madurados reducidos en grasa con diferencias sensoriales mínimas respecto al queso reducido en grasa producido a partir de nata pasteurizada, excepto para el color a los días 30 y 60 de maduración, y la dureza y elasticidad a los 30 días. Los panelistas describieron a estos quesos como más blancos, menos aromáticos y de intensidad de sabor intermedio entre el queso entero, que fue el que presentó mayor intensidad de sabor, que el queso con nata pasteurizada. Estos quesos también presentaron una acidez intermedia entre el queso entero, que fue descrito como el más ácido, y queso reducido en grasa, y unos valores de amargor y regusto similar al queso entero pero superior al queso reducido en grasa. Los resultados descritos en el análisis sensorial de los quesos concuerdan con los obtenidos en el análisis instrumental de color y textura, y análisis de compuestos volátiles.
10. Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio muestran que la utilización de la nata tratada por UHPH con adición de 1,5% de caseinato de sodio parece tener un enorme potencial en la elaboración de quesos frescos reducidos en grasa, mientras que para los quesos madurados esta potencialidad se vería disminuida por la dureza y debido a las diferencias sensoriales, principalmente.

Anexos

Anexo 1: FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE QUESO FRESCO

Nombre del catador: _____ Fecha: ___/___/___

Cátese atentamente las muestras de queso y señálese la valoración que se considere para cada carácter (comparando con la muestra control).

Para la notación de cada atributo, la siguiente escala da la magnitud de la desviación (nota hacia la parte positiva o negativa de la escala según es mayor o menor la desviación apreciada respecto a la muestra C):

Puntos

C desviación no apreciable respecto al Control

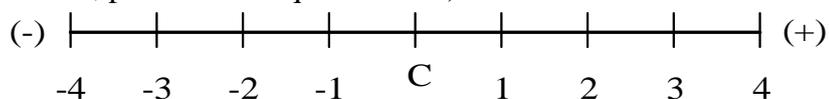
-1 y 1 desviación mínima respecto al Control

-2 y 2 desviación notable respecto al Control

-3 y 3 desviación considerable respecto al Control

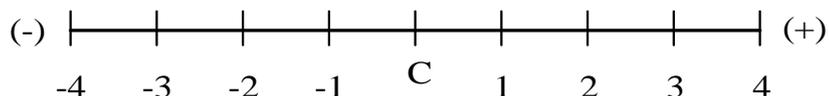
-4 y 4 desviación muy considerable respecto al Control

Color (Si nota diferencias, por favor indique amarillo)

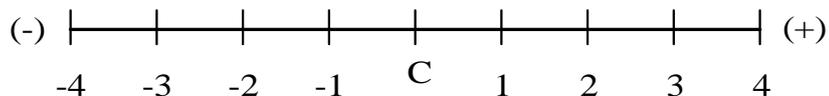


Textura

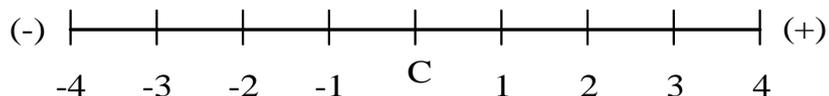
Firmeza



Sensación
acuosa



Aroma (intensidad)



Preferencia/Aceptación

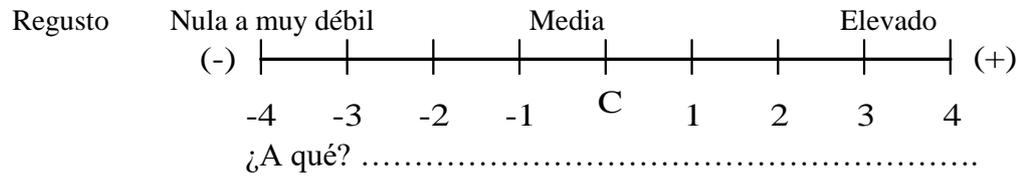
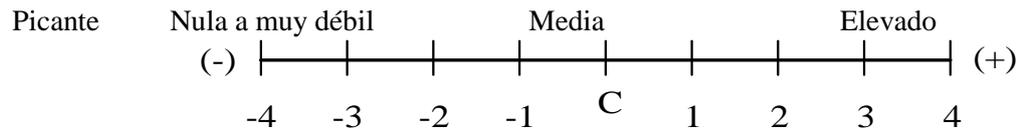
En la siguiente escala de puntuación marque con el código asociado a cada queso el comentario que mejor describe la muestra que ha probado. Tenga presente que usted es el juez y el único que puede decir lo que le gusta. Nadie sabe si este alimento debe ser

considerado bueno, malo o indiferente. La sincera expresión de su valoración personal nos ayudará a decidir.

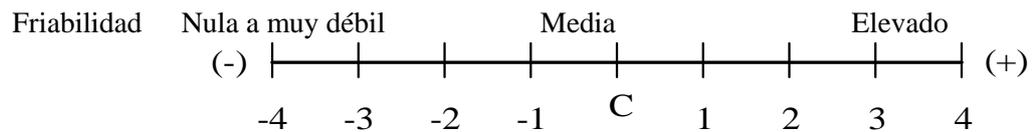
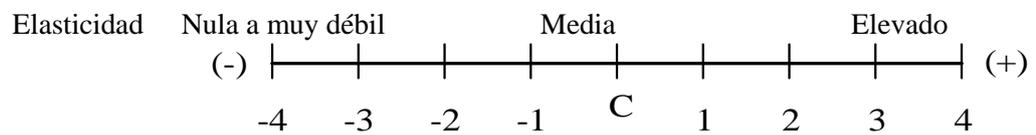
_____	Me gusta muchísimo	9
_____	Me gusta mucho	8
_____	Me gusta moderadamente	7
_____	Me gusta ligeramente	6
_____	Ni me gusta ni disgusta	5
_____	Me desagrada ligeramente	4
_____	Me desagrada moderadamente	3
_____	Me desagrada mucho	2
_____	Me desagrada muchísimo	1

Describir cuáles son los aspectos (atributos o parámetros) más y menos valorados de cada tipo de queso.

Código del queso	Aspectos mejores	Aspectos peores



Textura



Impresión global

Marque con una **X** su impresión general en cada código de queso

Categoría	Puntaje	Código de queso		
		C	842	251
Me gusta muchísimo	9			
Me gusta mucho	8			
Me gusta moderadamente	7			
Me gusta ligeramente	6			
Ni me gusta ni desagrada	5			
Me desagrada ligeramente	4			
Me desagrada moderadamente	3			
Me desagrada mucho	2			
Me desagrada muchísimo	1			

Observaciones: