



UNIVERSIDAD DE LEÓN

FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE HIGIENE Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**ESTUDIO BIOQUÍMICO DEL PROCESO MADURATIVO
DEL QUESO DE SAN SIMÓN DA COSTA ELABORADO
POR PROCEDIMIENTOS ARTESANALES E
INDUSTRIALES CON VISTAS A LA MEJORA DE SU
TECNOLOGÍA DE FABRICACIÓN**

Memoria presentada por

Elsa Lesaria Nhuch

Para optar al grado de Doctor por la Universidad de León

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro contato com a ciência da Tecnologia de Alimentos ocorreu no ano de 1970, no Technion (Israel Institute of Technology) em Haifa, Israel, e por esta razão, agradeço a dois professores Chaim Manheim e Zeki Berk. O interesse nessa área permaneceu comigo, apesar de ter percorrido outros caminhos ao longo dos anos.

Em 1994, surgiu uma nova oportunidade de retornar à ciência da Tecnologia de Alimentos, o projeto Brasil, onde a Universidade de León da Espanha em convênio com a Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), ofereceu o programa de doutorado em Higiene e Tecnologia de Alimentos. Graças a esse convênio, foi possível realizar esse trabalho, que além de um conhecimento científico, possibilitou um aporte cultural imenso, pois me deu a chance de viver na Espanha, desse modo conhecer a sua história, sua gente proporcionando-me muita satisfação.

Durante esta trajetória conheci muitas pessoas às quais devo agradecer, pois sem as mesmas não seria possível chegar até aqui.

De um encontro casual, como o que ocorre entre um aluno e um professor, em sala de aula, surgiu uma orientadora e uma orientada, e uma grande amizade, assim como ocorreu comigo e Ana Bernardo, que além de orientadora, foi e continua sendo uma grande amiga, pois compartilhamos a mesma idéia de que nesta vida, nada ocorre por acaso.

Um agradecimento muito especial à Agencia Espanhola de Cooperación Internacional, na pessoa de Pilar Mazmela do setor de Beca Mutis, cuja ajuda subvencionou minha estada na Espanha.

Muitas pessoas me apoiaram e me ajudaram a vencer horas e horas de trabalhos nos laboratórios como Bernardo e Inma, orientando e me mostrando as melhores técnicas, pois já tinham passado por isso antes.

À Chema, que viveu no Brasil, que sabe e entende as dificuldades e problemáticas por que passa um professor brasileiro ao tentar realizar um trabalho de pesquisa no exterior, o meu reconhecimento.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi realizada graças à dedicação e sabedoria de Gemma, que pacientemente me introduziu no uso do software Millenium. As muitas técnicas instrumentais foram realizadas com o auxílio de Tomas do laboratório de Instrumental.

Ao auxílio de Gemma, Sidonia e Javier Pinto por suas habilidades no trabalho com computador.

Além de todos os amigos e colegas do Departamento de Higiene e Tecnologia dos Alimentos da Universidade de León, tive o apoio de amigos de outros departamentos, não especificamente nos trabalhos experimentais, mas com manifestações de amizade e apoio nas horas difíceis, como os professores da Biologia (Angel, Felix, Carmen e Rosa), de Estudos Clássicos (Gaspar, Morocho e Rabanal), Toxicologia (Rafael, Rosa, David, Maria, Carlos e Joli), e Fisiologia (Julio e Zapico).

No Brasil, muitas pessoas se movimentaram para que eu pudesse deslocar-me e comunicar-me com a Espanha. Professor Warth, professor Gedart, Marli, Leonardo, Rodrigo, Luciana e Carlos Eduardo da equipe de doutorados da ULBRA.

Minha amiga especial Elenita Ribas (Coordenadora do Curso de Química da ULBRA), pelo seu apoio em todos os momentos desta trajetória.

Meus Colegas do Centro de Laboratórios da ULBRA, na pessoa da professora Tania, e dos técnicos Albert e Carla, por todo o auxílio prestado.

Aos meus alunos bolsistas de Iniciação Científica Gustavo e Masurquede.

Realmente é muito difícil citar as pessoas que fui encontrando por este caminho, aquelas que de uma forma ou de outra contribuíram para que eu pudesse superar as dificuldades que se apresentam quando se tenta alcançar um grande objetivo. A todas elas eu agradeço.

E finalmente, o maior agradecimento a minha família, que suportou e entendeu a distância que nos separou por muito tempo.



UNIVERSIDAD DE LEÓN
COMISIÓN DE DOCTORADO

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

Los Drs. Dña. Ana Bernardo Álvarez y D. Francisco Javier Carballo García como directores de la Tesis Doctoral: “Estudio bioquímico del proceso madurativo del queso de San Simón da Costa elaborado por procedimientos artesanales e industriales con vistas a la mejora de su tecnología de fabricación”

realizada en el Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos por la Doctoranda Dña. Elsa Lesaria Nhuch, autorizamos la presentación de la citada Tesis Doctoral, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En León, a 25 de enero de 2000

Los Directores de la Tesis

Fdo.: Dra. Ana Bernardo Álvarez

Fdo.: Dr. Francisco Javier Carballo García



UNIVERSIDAD DE LEÓN
COMISIÓN DE DOCTORADO

CONFORMIDAD DEL DEPARTAMENTO

El Departamento de *Higiene y Tecnología de los Alimentos*

En su reunión del día de febrero de 2000 , ha acordado dar la conformidad a la admisión a trámite de lectura de la Tesis Doctoral titulada:

“Estudio bioquímico del proceso madurativo del queso de San Simón da Costa elaborado por procedimientos artesanales e industriales con vistas a la mejora de su tecnología de fabricación”

Dirigida por los Drs. Dña. Ana Bernardo Álvarez y D. Francisco Javier Carballo García

**y presentada por Dña. Elsa Lesaria Nhuch
ante este Departamento.**

En León, a de febrero del 2000

VºBº EL DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO

EL SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO

Fdo.: Andrés Otero Carballeira

Fdo.: Teresa María López Díaz

ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN	1
I.1.- Generalidades	2
I.2.- Evolución de algunos parámetros fisicoquímicos y composicionales del queso durante la maduración	7
I.2.1.- pH y acidez de valoración global	7
I.2.2.- Actividad del agua y extracto seco	8
I.2.3.- Degradación de la lactosa	8
I.2.4.- Degradación de la materia grasa	11
I.2.5.- Degradación de las proteínas	16
I.2.5.1.-Enzimas coagulantes	18
I.2.5.2.- Proteasas de la leche	20
I.2.5.3.- Enzimas producidas por microorganismo.....	21
I.2.5.4.- Otras enzimas	23
I.3.- Clasificación de los quesos	24
I.4.- Principales quesos españoles	27
I.4.1.- Clasificación de los quesos españoles	29
I.5.- Descripción y características de los principales quesos españoles.....	30
I.5.1.- Quesos frescos	30
I.5.1.1.- Quesos frescos de vaca	31
I.5.1.2.- Quesos frescos de cabra	32
I.5.1.3.- Quesos frescos de mezcla	33
I.5.2.- Quesos tiernos	33
I.5.2.1.- Quesos tiernos de vaca	34
I.5.2.2.- Quesos tiernos de cabra	41
I.5.2.3.- Quesos tiernos de oveja	43
I.5.2.4.- Quesos tiernos de mezcla.....	43
I.5.3.- Quesos semicurados y curados	45
I.5.3.1.- De vaca	45
I.5.3.2.- De cabra	47
I.5.3.3.- De oveja	50
I.5.3.4.- De mezcla	52
I.5.4.- Quesos azules	54
I.5.5.- Quesos especiales.....	56
I.6.- Justificación y objetivos	60
II.- MATERIAL Y METODOS	62

II.1.- Material general de laboratorio	63
II.2.- El queso de San Simón da Costa	64
II.2.1.- Características generales	64
II.2.2.- Procedimiento de elaboración	65
II.2.3.- Características organolépticas	66
II.2.4.- Toma de muestras	68
II.3.- Métodos analíticos	69
II.3.1.- Parámetros composicionales	69
II.3.1.1.- Determinación de la humedad	69
II.3.1.2.- Determinación de la proteína	70
II.3.1.3.- Determinación de la grasa	71
II.3.1.4.- Determinación de las cenizas	72
II.3.1.5.- Determinación de los cloruros	73
II.3.1.6.- Determinación de los elementos minerales en queso	74
II.3.1.7.- Determinación de la lactosa	75
II.3.1.8.- Determinación de los ácidos D y L-lácticos	77
II.3.2.- Parámetros fisico-químicos	78
II.3.2.1.- Determinación del pH en el queso	78
II.3.2.2.- Determinación de la acidez titulable	79
II.3.2.3.- Determinación de la acitividad del agua	79
II.3.3.- Parámetros proteolíticos	80
II.3.3.1.- Fracciones nitrogenadas	80
II.3.3.1.1.- Determinación del nitrógeno soluble total	80
II.3.3.1.2.- Determinación del nitrógeno no proteico	82
II.3.3.1.3.- Determinación del nitrógeno amoniacal	82
II.3.3.1.4.- Determinación del nitrógeno amínico	83
II.3.3.1.5.- Determinación del nitrógeno proteico (NP), nitrógeno caseínico (NC), nitrógeno proteosa-peptona (Npp) y nitrógeno peptídico (Np)	84
II.3.3.2.- Electroforesis de las caseinas y compuestos de degradación.....	85
II.3.3.2.1.- Preparación de los tampones	85
II.3.3.2.2.- Preparación de los geles	86
II.3.3.2.3.- Relleno de los geles	86
II.3.3.2.4.- Preparación de las muestras	86
II.3.3.2.5.- Desarrollo electroforético	87
II.3.3.2.6.- Tinción de los geles	87
II.3.3.2.7.- Cuantificación de las bandas proteicas	87
II.3.3.3.- Determinación de los aminoácidos libres	88
II.3.3.3.1.- Extracción de los aminoácidos libres	89
II.3.3.3.2.- Derivatización de las muestras	89
II.3.3.3.3.- Preparación de los patrones	90
II.3.3.3.4.- Desarrollo cromatográfico	90
II.3.4.- Parámetros lipolíticos	91
II.3.4.1.- Determinación del índice de acidez de la grasa	91
II.3.4.2.- Determinación de los ácidos grasos libres	92
II.3.4.2.1.- Extracción de la materia grasa del queso	92

II.3.4.2.2.- Derivatización de las muestras	92
II.3.4.2.3.- Preparación de los patrones	93
II.3.4.2.4.- Desarrollo cromatográfico	93
II.3.5.- Tratamiento estadístico	94
III.- RESULTADOS	95
III.1.- Caracterización del queso San Simón da Costa	96
III.1.1.- Parámetros composicionales y fisico-químicos del queso San Simón da Costa fabricado de modo artesanal	96
III.1.2.- Parámetros composicionales y fisico-químicos de los quesos fabricados de modo industrial	97
III.1.3.- Composición mineral de los quesos artesanales	99
III.1.4.- Composición mineral de los quesos industriales	101
III.1.5.- Medida del grado de lipólisis y proteólisis de los quesos	103
III.1.5.1.- Medida del grado de lipólisis y proteólisis de los quesos artesanales	103
III.1.5.2.- Medida del grado de lipólisis y proteólisis de los quesos industriales	104
III.2.- Evolución de los parámetros composicionales durante la maduración del queso San Simón da Costa.....	105
III.2.1.- Evolución de los parámetros composicionales durante la maduración de los quesos artesanales	105
III.2.1.1.- Evolución del extracto seco de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	105
III.2.1.2.- Evolución de la lactosa y ácidos D y L-lácticos de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	106
III.2.1.3.- Evolución del contenido de cloruro sódico de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	108
III.2.1.4.- Evolución del contenido en elementos minerales de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	109
III.2.1.5.- Evolución del contenido de cenizas de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	114
III.2.1.6.- Evolución de los parámetros fisico-químicos de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	115
III.2.1.6.1.- Evolución del pH de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	115
III.2.1.6.2.- Evolución de la acidez titulable de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	116
III.2.1.6.3.- Evolución de la actividad del agua de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	117
III.2.1.7.- Evolución de los componentes nitrogenados de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	118
III.2.1.7.1.- Evolución de las fracciones y componentes nitrogenados de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	118
III.2.1.7.2.- Cambios sufridos por las caseínas y sus productos de degradación durante la maduración de los quesos	125

artesanales.....	
III.2.1.7.3.- Evolución de los aminoácidos libres de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	127
III.2.1.8.- Evolución de la fracción lipídica	131
III.2.1.8.1.- Cambios sufridos por el índice de acidez de la grasa de los quesos artesanales a lo largo de la maduración .	131
III.2.1.8.2.- Evolución de los ácidos grasos libres de los quesos artesanales a lo largo de la maduración	132
III.2.2.- Evolución de los parámetros composicionales durante la maduración de los quesos industriales	135
III.2.2.1.- Evolución del extracto seco de los quesos industriales a lo largo de la maduración	135
III.2.2.2.- Evolución del contenido de lactosa y ácidos D y L-lácticos de los quesos industriales a lo largo de la maduración	136
III.2.2.3.- Evolución del contenido de cloruro sódico de los quesos industriales a lo largo de la maduración	138
III.2.2.4.- Evolución del contenido en elementos minerales de los quesos industriales a lo largo de la maduración	141
III.2.2.5.- Evolución del contenido de cenizas en los lotes industriales a lo largo de la maduración	144
III.2.2.6.- Evolución de los parámetros fisico-químicos de los quesos industriales a lo largo de la maduración	145
III.2.2.6.1- Evolución del pH de los quesos industriales a lo largo de la maduración	145
III.2.2.6.2- Evolución de la acidez titulable de los quesos industriales a lo largo de la maduración	146
III.2.2.6.3.- Evolución de la actividad del agua de los quesos industriales a lo largo de la maduración	147
III.2.2.7.- Evolución de los componentes nitrogenados durante la maduración de los quesos industriales	148
III.2.2.7.1.- Evolución de las fracciones y componentes nitrogenados de los quesos industriales a lo largo de la maduración	148
III.2.2.7.2.- Evolución de las caseinas y sus productos de degradación a lo largo de maduración en el queso San Simón da Costa fabricado de forma industrial.....	154
III.2.2.7.3.- Evolución de los aminoácidos libres de los quesos industriales a lo largo de la maduración	156
III.2.2.8.- Evolución de la fracción lipídica durante la maduración en el queso San Simón da Costa fabricado de forma industrial	162
III.2.2.8.1.- Evolución de la grasa y del índice de acidez de la grasa de los quesos fabricados de forma industrial a lo largo de la maduración	162
III.2.2.8.2.- Evolución de los ácidos grasos libres de los quesos	162

industriales a lo largo de la maduración	168
IV.- DISCUSIÓN	168
IV.1.- Composición básica del queso de San Simón da Costa.....	169
IV.2.- Evolución de los parámetros composicionales y físico-químicos del queso a lo largo de la maduración	175
IV.2.1.- Extracto seco	175
IV.2.2.- Lactosa y ácidos L y D-lácticos	178
IV.2.3.- Evolución del contenido en cenizas, cloruro sódico y elementos minerales a lo largo de la maduración	180
IV.2.4.- Evolución de los parámetros físico-químicos durante el proceso madurativo	181
IV.2.5.- Evolución de los parámetros proteolíticos a lo largo de la maduración	183
IV.2.6.- Evolución de los parámetros lipolíticos a lo largo de la maduración	190
V.- CONCLUSIONES	193
VI.- BIBLIOGRAFÍA	197

I.- INTRODUCCIÓN

I.1. - GENERALIDADES

El queso es uno de los mejores alimentos de que dispone el hombre, no sólo por su gran valor nutritivo, derivado de su alto contenido en grasa, su riqueza en proteína de excelente calidad y en otros compuestos como Ca, fosfatos, vitamina A, riboflavina, etc., sino también porque posee características organolépticas muy variadas, por lo que puede formar parte de la dieta de forma continuada sin llegar a cansar.

Aunque la mayor fuente de variación en las características de los quesos reside en la diversidad de la materia prima empleada (influyendo no sólo la especie, sino también otros factores ambientales, como la época del año, el estado de lactación, la alimentación, etc.) también las modificaciones que se han ido introduciendo en los procesos de elaboración a lo largo de los años, dieron origen a la existencia de un gran número de variedades. En este sentido, parece ser que fueron los monasterios y los estados feudales, al funcionar como comunidades independientes y autosuficientes, los que contribuyeron en mayor grado al desarrollo de la tecnología quesera y a la evolución de los diferentes tipos de quesos. En algunos casos, pudo haberse tratado de accidentes, como por ej., el crecimiento de mohos o de otros microorganismos durante el almacenamiento que luego indujeron cambios, algunas veces favorables, en las características de los quesos.

Se ha intentado en muchas ocasiones encontrar una definición precisa para el queso, pero no con mucho éxito; probablemente la que tiene un carácter más generalizado sea la dada por la FAO en su "Código de Principios" (Scott, 1991) que define el queso como: "El producto fresco o madurado obtenido por coagulación y separación del suero de cualquiera de los siguientes productos: leche natural, leche desnatada (total o parcialmente), nata, suero de mantequilla o de una mezcla de cualquiera de ellos".

Ni siquiera esta definición es completamente adecuada, ya que en ella sólo se describen las materias primas y no los procesos de elaboración, olvidándose de todas las manipulaciones de la leche o de la cuajada en las diferentes etapas del sistema de fabricación, que van a dar origen a los distintos tipos de quesos.

El esquema básico de la fabricación del queso se refleja en la figura 1.

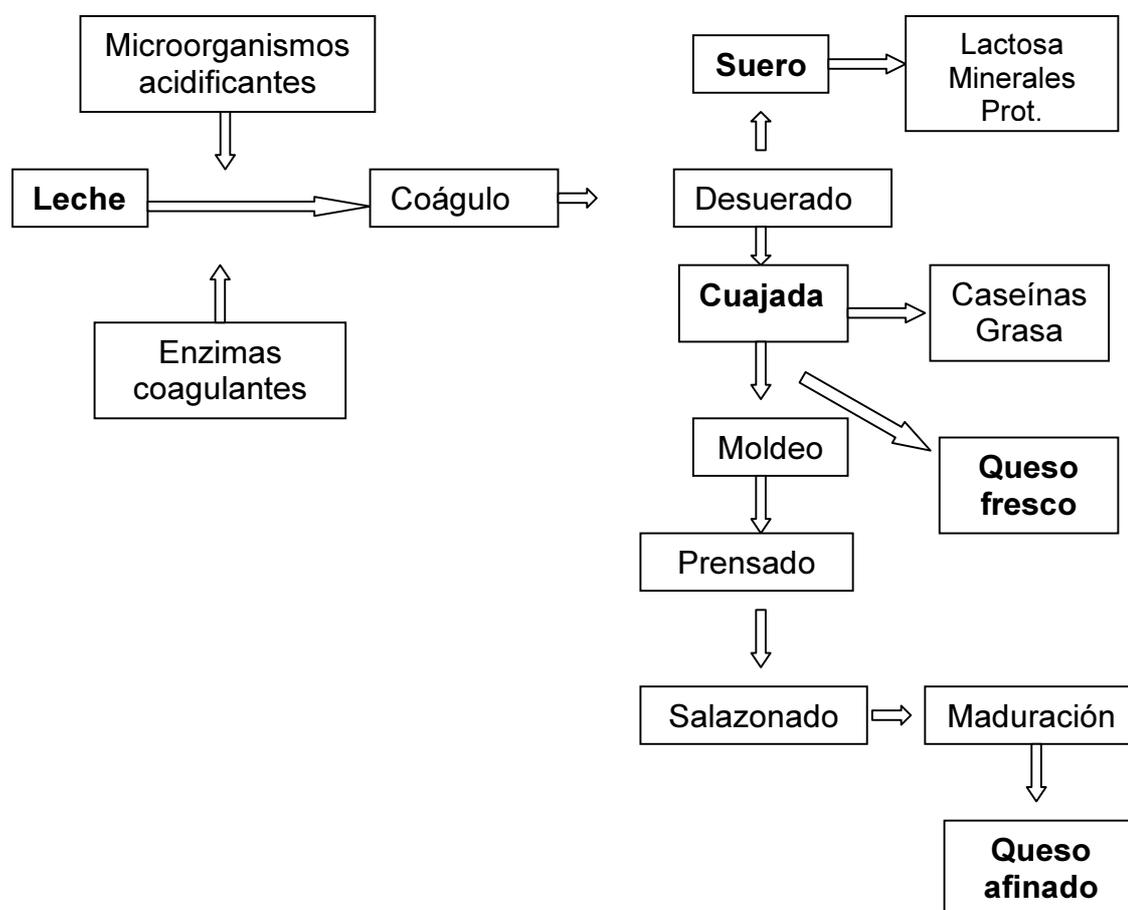


Figura 1 - Esquema básico de la fabricación del queso

Resulta extraordinariamente importante **la selección de la leche** que se va a utilizar para la fabricación de un tipo determinado de queso. Debe basarse en criterios de calidad química y microbiológica y en su aptitud para la coagulación. En aquellos casos en que se incorpora la pasterización se deben seleccionar los cultivos más adecuados.

La aptitud de la leche para la coagulación es una propiedad compleja en la que intervienen algunos componentes químicos y sus propiedades físicas. Los criterios de control habitualmente empleados son la medida del tiempo de coagulación, la velocidad de reafirmamiento del gel y la firmeza máxima del gel.

Las condiciones en las que se realiza la coagulación van a determinar la obtención de un gel ácido (blando, friable, poroso y muy desmineralizado) o un gel enzimático (flexible, firme, poco permeable). En la fabricación de la mayor

parte de los quesos, la cuajada es de naturaleza mixta y el gel que se obtiene es de características intermedias. Se debe en parte a los efectos del cuajo añadido sobre la *k*-caseína y de los ácidos producidos por la flora natural y/o añadida.

El grado en que predomina una u otra acción depende principalmente de la dosis de cuajo utilizada, de la temperatura y del pH.

El desuerado constituye una operación de gran importancia, ya que va a regular el contenido en extracto seco y en minerales de la cuajada, así como la cantidad de lactosa y cuajo residual. Se puede facilitar cortando la cuajada con ayuda de liras y someténdola a presión.

Es importante determinar el momento óptimo para comenzar a desuerar; se hace mediante la utilización de pruebas subjetivas u objetivas, basándose estas últimas en ciertas propiedades reológicas de la cuajada.

La extensión con que tiene lugar el desuerado depende de la intensidad del trabajo aplicado, del pH de la cuajada, de la temperatura y de las condiciones de prensado y/o lavado. Una vez obtenida la cuajada ésta se transfiere a los moldes donde el queso adquiere su tamaño y forma definitivos.

El salazonado además de proporcionar sabor al queso regula la disponibilidad del agua y a través de ella, la evolución de la flora microbiana durante la maduración.

Puede llevarse a cabo de diversas formas: en seco (adicionando sal sólida, bien a la leche antes del cuajado, durante el proceso de corte, o a la salida del molde) o en húmedo, sumergiendo el queso tras ser retirado del molde en una salmuera de concentración variable durante un tiempo determinado. A menor contenido en agua, mayor de grasa y pH más alto, más lentamente penetrará la sal y cuánto mayor sea la superficie del queso en relación con su volumen, más rápidamente tomará la sal.

La maduración es un conjunto de procesos bioquímicos complejos, en el transcurso de los cuales se transforma la cuajada en un producto, el queso, con sabor y aroma característicos.

Los fenómenos implicados en esta evolución son de gran complejidad debido a la naturaleza del sustrato, a la variedad de agentes responsables de las transformaciones, a la diversidad de las modificaciones sufridas por los

constituyentes y al gran número de productos formados. Aunque las principales reacciones (glicolisis, proteolisis y lipolisis) son comunes a la mayoría de las variedades, difieren siempre en algún detalle y junto con otras reacciones secundarias, dan cuenta de la individualidad de cada tipo de queso.

Estas transformaciones están en parte determinadas por el proceso tecnológico y por la estructura fisicoquímica de la cuajada (las proporciones de agua libre y agua ligada, la estructura de la materia grasa, su estado globular más o menos intacto, más o menos dispersado, la estructura de la micela, más o menos modificada por la desmineralización, etc.) que van a regular la actividad de las enzimas que participan en el proceso.

Los fenómenos microbianos que tienen lugar en los quesos presentan tal complejidad que aún estamos lejos de conocerlos en todos sus detalles. Es, por tanto, muy probable que la utilización de cultivos iniciadores, en el estado actual de nuestros conocimientos, no aporte todos los elementos necesarios para la fabricación de un queso excelente. Esto justificaría el sabor generalmente menos aromático y más soso que presentan los quesos que se fabrican con leche pasteurizada. No obstante, algunos quesos, como los de pasta firme del tipo del Saint-Paulin y Holanda y, en general, aquéllos en cuyo afinado desempeñan un papel importante los gérmenes lácticos, tienen un elevado grado de calidad.

El almacenamiento de los quesos en las cámaras de maduración es una parte de la tecnología que encarece considerablemente el proceso, no sólo por la inversión necesaria, sino también por lo que supone la inmovilización del producto. Por ello, es deseable desde un punto de vista económico acortar al máximo el periodo de maduración, pero aún así hay grandes variaciones entre los diferentes tipos de quesos, oscilando entre unos pocos días para quesos frescos o semicurados fabricados con leche pasteurizada, hasta varios años en algunas especialidades, como el Parmesano o el Grana.

Antiguamente se utilizaban cavas naturales en las que las condiciones de temperatura y humedad resultaban bastante constantes; esta práctica se sigue manteniendo hoy en día para algunos tipos de quesos como el Roquefort o el Cabrales, pero en la actualidad, se usan generalmente cámaras bien aisladas y condiciones reguladas.

El acondicionamiento del aire a nivel industrial se consigue con un sistema que consta de un ventilador que impulsa el aire, previamente enfriado y parcialmente desecado, sobre una batería caliente que restablece la temperatura dentro de los límites deseados, y finalmente, sobre un vaporizador de agua que confiere al aire la humedad requerida para la óptima evolución del proceso.

Durante la estancia de los quesos en las cámaras se debe controlar la uniformidad en la maduración y la formación de la corteza, siendo necesario voltearlos periódicamente durante toda la duración del proceso.

También con frecuencia hay que lavar y cepillar la superficie de los quesos para evitar la proliferación de hongos indeseables que entorpecen o impiden el correcto cortejado. Algunas variedades se recubren con ceras o pinturas antifúngicas.

Asimismo, es de vital importancia el mantenimiento de las cámaras en perfectas condiciones de limpieza y desinfección, evitando la contaminación con ácaros que suponen importantes pérdidas en la producción de quesos curados. También es necesario controlar la flora ambiental, para evitar la proliferación de microorganismos indeseables.

Las diferencias entre los distintos quesos derivan de factores químicos: contenido en agua, proteína, grasa, lactatos, proporción de calcio retenida en la cuajada, etc.; de factores físicos: diferencias en el grado de dureza, plasticidad y friabilidad; de factores fisicoquímicos: pH, a_w , Eh; de factores microbiológicos: todos aquellos relacionados con los diferentes microorganismos que participan en la maduración, y de factores bioquímicos: la actividad de las enzimas utilizadas para la coagulación de la leche y la naturaleza y función de otras que, o bien proceden de la leche, o de los microorganismos que intervienen en la maduración. Además como señala Scott (1991), las diferencias dentro de cada variedad, respecto al tamaño, forma, presentación, recubrimiento, sistema de fabricación utilizado, etc., han dado lugar a la existencia de un número muy elevado de variedades de quesos.

I.2. - EVOLUCIÓN DE ALGUNOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y COMPOSICIONALES DEL QUESO DURANTE LA MADURACIÓN

I.2.1. - pH y acidez de valoración global

Las transformaciones que se operan en las cuajadas están condicionadas por el pH y la acidez que, en ciertos casos, presentan variaciones paralelas, pero en otros no. Ello es debido a que a un pH determinado la acidez de valoración global aumenta con la capacidad tampón del sistema, que depende a su vez del contenido en extracto seco (proteínas, fosfatos, ácido carbónico y calcio, principalmente) (Lucey y Fox, 1993). La acidez de valoración global generalmente disminuye en el curso de la maduración debido a que se metaboliza el ácido láctico generando sustancias que contribuyen a su "bouquet" (Adda, 1987; Fox y col., 1990).

El pH interviene en la regulación del desarrollo de los principales microorganismos implicados en el proceso y en la producción y actividad de las enzimas responsables de la maduración. En general, los pHs inferiores a 4,5 reducen notablemente la actividad de muchas de ellas, como por ejemplo las proteasas, que presentan un máximo de actividad a pHs comprendidos entre 5,5 y 6,5 (Choisy y col., 1990).

La evolución del pH durante la maduración es diferente para cada tipo de queso y constituye un reflejo de los cambios que se han producido. Normalmente, al final del desuerado la cuajada presenta valores de pH en torno a 5,5 que suben en el transcurso de la maduración en los quesos de pasta blanda hasta valores próximos a 7 al final de la misma (Lenoir, 1963; Karahadian y Lindsey, 1987), mientras que en los de pasta prensada permanece prácticamente constante, en torno a valores de 5,5. El pH interviene en la determinación del sabor (Adda y col., 1982) pudiendo aparecer sabores amargos en el Cheddar si el cuajado se efectúa a pHs inferiores a 4,95 (Lawrence y Gilles, 1969; Lemieux y Simard, 1991). Tiene también una clara relación con la textura (Lawrence y col., 1987; Creamer y col., 1988) determinada fundamentalmente por el grado de proteólisis, siendo ésta más extensa a pHs altos (Trieu-Cuot y Gripon, 1982; Van den Berg y Exterkate, 1993).

I.2.2. - Actividad del agua y extracto seco

La a_w es un factor determinante del crecimiento microbiano y de las transformaciones enzimáticas y químicas y contribuye al desarrollo de los caracteres organolépticos e incluso reológicos del queso.

En la coagulación ácida, la desmineralización de la caseína provoca una reducción de la actividad del agua del medio, ya que los iones liberados retienen una cierta proporción de la misma (Rüegg y Blanc, 1981). En la coagulación enzimática se elimina en el suero la fracción más hidrofílica de la *k*-caseína con la consiguiente repercusión que provoca sobre la a_w de la cuajada (Hardy, 1990). Los procesos de desuerado (por la eliminación de la mayor parte del agua), de salazonado y la evaporación del agua que tiene lugar en el transcurso de la maduración, influyen también en la evolución de la a_w . Por otra parte, las reacciones bioquímicas, fundamentalmente hidrolíticas, que tienen lugar, producen una disminución del agua libre (Fernández-Salguero y col., 1986; Schlessler y col., 1992).

El extracto seco del queso (ES) influye en las características reológicas y regula indirectamente el curso de la maduración.

Los quesos se definen por un contenido en ES que va desde el 25% para los de pasta fresca hasta el 70% para algunos de pasta dura. Los de pasta blanda, como el Camembert o el Brie, se fabrican a partir de cuajadas muy húmedas, mientras que el Gruyère o el Emmental se hacen con cuajadas muy desueradas en las que la eliminación del suero se acentúa por calentamiento de la cuajada. La intensidad de la deshidratación dependerá del tamaño y forma del queso, así como de las condiciones ambientales en las que se realice la maduración.

I.2.3. - Degradación de la lactosa

El metabolismo de la lactosa se produce fundamentalmente siguiendo dos rutas: la de las hexosas-difosfato y la de las pentosas-fosfato. A través de la primera, la lactosa se transforma en ácido pirúvico que, por el ciclo de Krebs, es degradado a CO_2 y H_2O por los microorganismos aerobios. Sin embargo, la mayor parte de la

lactosa es degradada anaeróbicamente por las bacterias lácticas homofermentativas (lactococos y lactobacilos) a ácido láctico.

Otros microorganismos lácticos, como los leuconostocs y los lactobacilos heterofermentativos la degradan a través de la vía pentosa-fosfato y originan, además de ácido láctico, cantidades importantes de otros compuestos como CO₂, etanol, ácido acético, etc.

Durante el proceso de elaboración del queso se produce generalmente la fermentación homoláctica aunque en ocasiones, como en los de pasta cocida, tienen lugar otro tipo de fermentaciones.

La mayor parte de la lactosa de la leche, en torno al 98%, es solubilizada y drenada con el suero y, aunque queda retenida una pequeña proporción, su degradación por la flora láctica es una reacción esencial que afecta a la sinéresis, retención de calcio, actividad de las enzimas coagulantes y desarrollo de la flora contaminante. El ácido láctico resultante, provoca la acidificación del medio, siendo la velocidad del proceso característica de cada variedad de queso; por ejemplo, en el Cheddar, el 50% de la lactosa desaparece a las 6 horas siguientes al prensado, aunque todavía se puede detectar en el queso madurado. En el Camembert, el ritmo de desaparición es más lento (Berner, 1970) y en otros quesos, como en algunas variedades inglesas (Florence y col., 1984) se ha determinado en cantidades altas al final de la maduración.

La producción de ácido láctico antes del desuerado da lugar a una gran desmineralización de la cuajada que es muy pronunciada en el Cheddar y en el Camembert, por las condiciones especiales de fabricación utilizadas en estos tipos de queso. Las pérdidas de calcio y fosfato de las micelas de caseína determinan la estructura básica y la textura del queso (Lawrence y col., 1983; Lawrence y col., 1987) siendo ésta más elástica cuanto más alto es el pH de la cuajada, aunque posteriormente puede verse modificada por la extensión de la proteólisis que tiene lugar durante la maduración (O'Keeffe y col., 1975; Fox y col., 1990).

Por otra parte, las modificaciones en el pH y la cantidad de sal también afectan a la velocidad de la sinéresis y regulan la actividad de las proteasas (Dolby, 1941; Creamer y col., 1985; Fox, 1989).

La lactosa residual es metabolizada, más o menos rápidamente, en función del porcentaje de sal/humedad del queso, de la temperatura y de los microorganismos implicados en el proceso. A bajas concentraciones de sal/humedad y pequeño número de bacterias lácticas no añadidas, la lactosa es convertida por los cultivos iniciadores principalmente a ácido L-láctico. Sin embargo, con una población más alta de bacterias acidolácticas que constituyen la flora secundaria y altas temperaturas de almacenamiento se producen considerables cantidades de ácido D-láctico, formadas por la fermentación de la lactosa residual o por reacciones de isomerización del L-lactato (Turner y Thomas, 1980; Thomas y Crow, 1983). Con altas concentraciones de sal/humedad, en torno al 6%, la lactosa residual se consume muy lentamente y si el número de microorganismos presentes es bajo, los cambios en el lactato son muy pequeños. La racemización del L-lactato probablemente no es significativa desde el punto de vista del desarrollo del aroma, pero tiene consecuencias indeseables en la nutrición de los niños. Además, el D-lactato es una forma menos soluble y puede cristalizar en la masa del queso, especialmente sobre las superficies de corte (Pearce y col., 1973; Severn y col., 1986; Dybing y col., 1988).

En algunos tipos de quesos, como los suízos, el L-lactato es transformado a otros compuestos, como propionato, acetato y CO₂ que son responsables de la formación de ojos y contribuyen a la aparición de su aroma específico. En los quesos madurados por mohos el metabolismo del lactato a CO₂ y H₂O ocasiona un incremento del pH en la parte externa y da origen a la formación de un gradiente que tiene como resultado la difusión del lactato hacia el exterior. Tras metabolizar completamente el lactato estos microorganismos comienzan a utilizar las proteínas produciendo amoníaco, que difunde hacia el interior, y provoca un incremento del pH. Al aumentar el pH, la concentración de fosfato cálcico en la superficie excede su solubilidad y precipita provocando una salida del mismo desde el interior que origina la aparición de una textura más blanda (Noomen, 1983; Karahadian y Lindsay, 1987). Además la desacidificación que se produce estimula la acción de la plasmina y del cuajo residual responsables de la proteólisis en el interior del queso, originándose, por la actuación combinada de estos factores, la textura típica de estos tipos de queso.

El citrato, aunque se encuentra en pequeña concentración en la leche (8 mM) y se pierde en un 90% en el suero, tiene una gran importancia en muchos quesos elaborados con cultivos mesófilos (Cogan, 1985; Cogan y Daly, 1987). Es metabolizado por *Lactococcus lactis subesp. diacetylactis* y por varias especies de *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, con la producción de diacetilo y CO₂, contribuyendo a la formación del aroma específico de varios tipos de quesos (Manning, 1979 a, b; Aston y Dulley, 1982). Debido a la producción de CO₂, el metabolismo del citrato es también responsable de la aparición de los ojos característicos de algunas variedades.

I.2.4. - Degradación de la materia grasa

La materia grasa de la leche, constituida básicamente por triglicéridos, se encuentra en forma de glóbulos grasos, cuyo tamaño varía dependiendo de la especie. Así, en la leche de cabra el 65% de los glóbulos poseen un diámetro menor de 3 micras, mientras que en la de vaca el diámetro oscila entre 3 y 6 micras (Choisy y col., 1990) por lo que, a igual contenido en grasa, la leche de cabra tiene el doble de glóbulos grasos que la de vaca, lo que favorece su digestibilidad (Le Mens, 1991).

La degradación de la fracción lipídica del queso se produce fundamentalmente por acción de las lipasas, que transforman los triglicéridos en glicéridos parciales y ácidos grasos libres. Estos ácidos grasos liberados, pueden permanecer en el queso como tales o transformarse en compuestos como metil cetonas o alcoholes secundarios, que contribuyen de manera notable al aroma del mismo (Adda, 1987).

Se consideran ácidos grasos libres los ácidos monocarboxílicos alifáticos, saturados e insaturados, de número par ó impar de átomos de carbono, de cadena lineal ó ramificada y que se pueden encontrar en forma libre o como sales.

Aunque en principio la mayor parte de los ácidos grasos libres presentes en el queso proceden de la lipólisis (Dulley y Grieve, 1974; Aston y Dulley, 1982), algunos ácidos grasos de cadena corta como acético, propiónico y butírico, pueden provenir de la fermentación de los hidratos de carbono o de la desaminación oxidativa de algunos aminoácidos (Nakae y Elliot, 1965 a, b).

El grado de lipólisis varía enormemente en las distintas variedades de quesos. Así, mientras que en los de vena azul el porcentaje de ácidos grasos libres puede suponer el 25% de los ácidos grasos totales, en otros como el Cheddar o el Gouda, este porcentaje se reduce hasta valores del 1-1,5%, siendo las lipasas naturales de la leche original y predominantemente las lipasas de los microorganismos que componen su flora, los principales responsables de la degradación hidrolítica durante la maduración. Otra fuente de actividad lipolítica que puede tener interés en ciertos quesos, son las esterasas pregástricas incorporadas con el cuajo.

La lipasa nativa de la leche es una lipoproteína, cuya concentración varía entre 1-2 mg/L (Olivecrona, 1979). En leche de vaca, se encuentra principalmente asociada a la micela de caseína mediante enlaces iónicos e interacciones hidrofóbicas, lo que hace que su actividad sea limitada. Por el contrario, en leche de cabra la cantidad de lipasa unida a la caseína es escasa, un 8%, mientras que el 46% se asocia a la fracción de la grasa, lo que parece determinar una correlación positiva entre la actividad de esta enzima y la lipólisis espontánea de la leche (Chilliard y col., 1984).

Las condiciones óptimas para su actuación son temperatura entre 35-40°C y pH entre 8-9, siendo relativamente estable frente al calor, ya que para su inactivación se necesita un tratamiento de 78°C durante 15 segundos (Driessen, 1989).

Su actividad está estimulada por iones divalentes, como Ca^{++} , siendo fuertemente inhibida por algunos productos, como ácidos grasos de cadena larga, a los que se une fuertemente (Walstra y Jenness, 1989).

La lipasa nativa tiene una marcada especificidad, actuando principalmente sobre los ácidos grasos de los triglicéridos situados en la posición sn_1 y en menor medida, sobre los sn_3 , aunque se ha demostrado que también puede hacerlo sobre los sn_2 monoglicéridos, después de su transformación en isómeros sn_1 o sn_3 (Deeth y Fitzgerald, 1983); de ahí, la gran liberación que produce de ácidos grasos de cadena corta situados preferentemente en dichas posiciones (Ha y Lindsay, 1993).

Su actividad lipolítica no se conoce con exactitud, pero se sabe que depende de numerosos factores, entre los que cabe citar, la proporción de enzima retenida en la cuajada y el estado de la membrana de los glóbulos grasos.

Las condiciones de pH y S/H que presentan la mayor parte de los quesos, muy alejadas del óptimo de actuación de esta enzima (Cartier y col., 1989; Vlaemynck, 1992; Fox y Stepaniak, 1993), deben reducir notablemente su actividad; no obstante, existen datos que demuestran que en quesos fabricados con leche cruda la lipólisis es mucho mayor que cuando se utiliza leche pasteurizada (McSweeney y col., 1993b). Del mismo modo, en un estudio realizado en queso Cheddar con cuajadas asépticas, Reiter y colaboradores (1967), han observado que la presencia de la enzima provoca la aparición de un 15-20% más de ácidos grasos libres.

Las pastas de cuajo preparadas a partir de los estómagos de terneros, corderos y cabritos lactantes son muy utilizadas en la elaboración de ciertas variedades de quesos italianos, como el Romano o el Provolone y en algunas variedades artesanales como el Majorero (Fontecha y col., 1990). Las esterasas pregástricas, presentes en estas pastas, son responsables del característico sabor picante que presentan estos quesos, debido a la liberación de ácidos grasos de cadena corta (Nelson y col., 1976; Ha y Lindsay, 1991; 1993).

Este tipo de esterasas tiene, en general, escaso interés, ya que la inmensa mayoría de quesos se elaboran con extracto de cuajo purificado (libre de esterasas pregástricas). No obstante, su posible utilización en la maduración acelerada, para favorecer el desarrollo de un aroma adecuado en poco tiempo (Fox, 1988-1989), ha potenciado los estudios sobre purificación y caracterización de diversas esterasas pregástricas procedentes de terneros, corderos y cabritos.

La lipólisis de los quesos atribuible a la flora acidoláctica es muy limitada; sus lipasas dirigen principalmente su acción sobre mono y diglicéridos, formados previamente por la lipasa nativa de la leche (Stadhouders y Veringa, 1973). La hidrólisis es lenta y la concentración de ácidos grasos libres es escasa, por lo que su contribución al aroma del queso no resulta demasiado importante (Law, 1984b; Olson, 1990).

En general, tanto las lipasas de lactococos como las de lactobacilos liberan específicamente ácidos grasos libres de cadena corta (Kamaly y Marth, 1989; El-Soda y col., 1986) aunque se ha encontrado, en el caso de lipasas de *Lactobacillus casei* (Yu, 1986), gran cantidad de ácidos grasos de cadena larga C₁₆ y C_{18:1}.

A pesar de que pHs próximos a la neutralidad y temperaturas entre 35 y 40°C son las condiciones óptimas para el funcionamiento de estas enzimas, existen pequeñas diferencias dependiendo de la especie implicada. Así, mientras que las lipasas de *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris* funcionan mejor a pH 7-8,5 y 37°C de temperatura (Kamaly y col., 1990), las de *Lactobacillus plantarum* tienen pHs óptimos de actuación entre 6-7 y temperaturas de 40°C, aunque estas últimas son más activas frente a sustratos en solución, lo que hace pensar que sean estererasas. Parece demostrado que tanto los lactococos, los más lipolíticos, como los lactobacilos, poseen normalmente mayor actividad estererasa que lipasa (Piatkiewicz, 1987).

Su localización es fundamentalmente citoplasmática, por lo que resulta necesaria la lisis bacteriana para que puedan funcionar. No obstante, en *L. casei*, Yu (1986) ha demostrado la existencia de lipasas exocelulares capaces de liberar grandes cantidades de C₈ y C₁₀.

En quesos fabricados con leche cruda puede ser importante la presencia de micrococcos y estreptococcos fecales cuyas lipasas contribuyen de manera notable al aroma de este tipo de quesos. Los micrococcos poseen una lipasa intracelular, activa a pH 5-6 y otra exocelular activa a pH 8-8,5, capaces de actuar sobre triglicéridos con ácidos grasos tanto de cadena corta como larga; además, poseen actividad estererasa que puede funcionar a pH entre 5-8 y concentraciones de S/H menores de 5% liberando ácidos grasos de cadena corta (Bhowmik y Marth, 1990). En *Streptococcus faecalis*, ha sido puesta de manifiesto una lipasa intracelular (Chander y col., 1979), estable entre valores de pH de 6-8, con gran afinidad sobre triglicéridos con ácidos grasos de cadena corta.

Una fuente importante de lipasas activas en leche y queso son los microorganismos psicrotrofos que dominan en la microflora de la leche refrigerada, siendo los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, etc., los más frecuentes. Sus lipasas son estables a los tratamientos sufridos por la leche

(Fairbairn y Law, 1986) y por su capacidad de adsorberse a la superficie de los glóbulos grasos, pueden concentrarse en el queso. Aunque algunas pueden presentar actividad al pH de la leche (Fitzgerald y Deeth, 1983) o del queso (Law y col., 1976), normalmente pHs entre 7-9 son óptimos para su funcionamiento.

A pesar de la existencia de pequeñas diferencias en su especificidad, generalmente actúan sobre los ácidos grasos situados en posición sn_1 y sn_3 , de los triglicéridos para producir dos monoglicéridos, habiéndose encontrado también lipasas de psicrotrofos específicas en la hidrólisis de triglicéridos de cadena larga y corta.

La producción de grandes cantidades de ácidos grasos libres por estas enzimas parece que contribuye a la aparición de sabores rancios ó jabonosos durante el almacenamiento del queso, acortando su vida útil. Law y col. (1976) en un estudio sobre la maduración del queso Cheddar y Kalogridou-Vassiliadou y Alichanidis (1984) en queso Télémé, han observado que cuando los recuentos de psicrotrofos superaban 10^7 ufc/ml aparecían este tipo de defectos. No obstante, debe tenerse en cuenta, que los psicrotrofos poseen gran variabilidad en su capacidad para producir lipasas, por lo que los recuentos iniciales pueden no ser un buen índice para la medida del grado de lipólisis (Martín-Hernández, 1991).

Las lipasas fúngicas originan un elevado grado de lipólisis pudiendo llegar a suponer los ácidos grasos libres en los quesos de vena azul el 25% del total de los ácidos grasos presentes. A pesar de ello, su impacto en el aroma es menor que el apreciado en otras variedades de queso, como el Romano o el Provolone, en cuya maduración intervienen esterases pregástricas, ya que en los quesos madurados por mohos el incremento del pH en la masa durante la maduración, disminuye el umbral de percepción de los ácidos grasos libres; además, muchos de ellos se transforman en metil cetonas y otros compuestos (Fox y col., 1993) cuya repercusión en el aroma es más escasa.

La especificidad de las distintas lipasas fúngicas puede variar entre especies. Así, mientras que la de *Geotrichum candidum* se caracteriza por actuar sobre triglicéridos con ácidos grasos con un doble enlace en posición 9 (Sidebottom y col., 1991; Lesage y col., 1993), la de *Penicillium roqueforti* muestra mayor especificidad en la liberación de ácidos grasos de cadena corta (Ha y Lindsay, 1993).

También los pHs óptimos de actuación son diferentes. Así, por ejemplo, se ha encontrado un óptimo a pH 9 para la lipasa exocelular de *P. camemberti* (Lamberet y Lenoir, 1976), un pH 6 para la de *G. candidum*, mientras que *P. roqueforti* produce una lipasa alcalina, más activa sobre la tributirina, con pH óptimo de 7,5-8 (Eitenmiller y col., 1970) y una ácida, más activa sobre la tricaproína, con pH óptimo de 6-6,5 (Lamberet y Menassa, 1983).

Por último, conviene resaltar que la concentración de cloruro sódico puede modificar el grado de lipólisis debido a estas enzimas, habiéndose demostrado (Godinho y Fox, 1981) que elevadas concentraciones de sal inhibían la lipólisis asociada a *P. roqueforti*.

I.2.5. - Degradación de las proteínas

Las proteínas son hidrolizadas por acción de la quimosina y de las proteasas de la flora del queso cuya actuación originará la liberación de aminoácidos y péptidos de bajo peso molecular. A partir de los aminoácidos se pueden originar otros compuestos, ya que sufren procesos de degradación y de resíntesis, con formación de aminoácidos nuevos. En quesos de maduración muy larga, los aminoácidos libres pueden reaccionar con dicarbonilos vecinales vía la degradación de Strecker, originando un aldehído con un átomo de carbono menos y una aminocetona, además de gas carbónico.

La degradación de las proteínas, según Fox y McSweeney (1996) da lugar a:

- 1) Cambios en la textura originados por la ruptura de las cadenas proteicas, por la disminución de la a_w , debida a la liberación de grupos carboxilo y amino y por el incremento en el pH, debido a la producción de NH_3 por desaminación de los aminoácidos libres.
- 2) Formación de compuestos que tienen una contribución directa sobre el aroma (péptidos, aminoácidos) aunque a veces se originan aromas anómalos (especialmente amargor, debido a la producción de péptidos hidrofóbicos).
- 3) Liberación de sustratos (aminoácidos) que generarán diversos compuestos aromáticos por desaminación, decarboxilación, desulfuración, etc.

4) Liberación de compuestos sápidos durante la masticación.

Las distintas fracciones nitrogenadas que aparecen durante la maduración ofrecen un perfil diferente y característico para cada variedad de queso, que está condicionado por el método de elaboración, las diferencias ambientales a que se somete durante la maduración y la diversidad de los agentes implicados en la misma.

Para seguir los cambios de los componentes nitrogenados durante la maduración, se determina tradicionalmente el nitrógeno soluble total (NST), el nitrógeno no proteico (NNP), el nitrógeno amínico (N-NH₂) y el nitrógeno amoniacal (N-NH₃). A partir de estos datos puede calcularse, asimismo, el N proteico (NT - NNP) y el de sus componentes, el nitrógeno caseínico (NT - NS) y el nitrógeno proteosa-peptona (NS - NNP), así como el nitrógeno peptídico (NNP - N amínico - N-NH₃). Este método proporciona una idea razonablemente buena del curso de la proteólisis durante la maduración, aunque su valor no es, desde luego, absoluto.

En el transcurso de la maduración se produce inicialmente un aumento del NS, después del NNP y finalmente del amínico y amoniacal. El N caseínico va disminuyendo según el grado de proteólisis del queso.

La tasa de NS, que es muy variable entre las diferentes variedades, es el dato más generalmente empleado para definir la extensión de la proteólisis y se expresa como $NS/NT \times 100$.

La intensidad de la proteólisis viene reflejada:

a) Por la evolución de la fracción proteosa-peptona que se forma como producto intermedio en la degradación de la paracaseína, rindiendo finalmente compuestos nitrogenados de bajo peso molecular.

b) Por la proporción en que se encuentran el resto de los componentes de la fracción nitrogenada (N peptídico, N amínico y N amoniacal, principalmente). De la relación entre estos últimos puede obtenerse también información acerca del tipo de enzimas que intervienen en el proceso: la intervención de las bacterias lácticas se caracteriza por la aparición de una gran proporción de N amínico y poco N-NH₃, mientras que la participación de microorganismos productores de exopeptidasas proporciona fundamentalmente N-NH₃.

Las enzimas responsables de la proteólisis provienen de:

- 1) El agente coagulante (quimosina, pepsina o proteasas fúngicas)
- 2) La leche (plasmina y posiblemente la catepsina D u otras proteasas celulares).
- 3) Los microorganismos inicialmente presentes o intencionadamente añadidos.
- 4) Las proteasas y/o peptidasas exógenas que en ocasiones se añaden para acelerar la maduración o acentuar el aroma.

La secuencia de la proteólisis se puede resumir de la forma siguiente:

La hidrólisis inicial de las caseínas es catalizada por la enzima coagulante y en menor extensión por la plasmina, la catepsina D y posiblemente por otras proteasas que originarán péptidos grandes y de mediano tamaño que serán posteriormente degradados por la acción de la enzima coagulante y de otras proteasas y peptidasas bacterianas. En algunos quesos como el Mozzarella, quesos suizos y otros que sufren un proceso de cocción, como por ejemplo, el Emmental el agente proteolítico más importante es la plasmina ya que las altas temperaturas desnaturalizan la enzima coagulante. (Mathenson, 1981; Sing y Creamer, 1990; Boudjellab y col., 1994).

I.2.5.1. - Enzimas coagulantes

La quimosina (EC 3.4.23.4) es el agente coagulante más ampliamente utilizado en la fabricación de quesos. Es una aspartil proteasa de origen gástrico, secretada por los mamíferos jóvenes. Hidroliza específicamente el enlace Phe 105-Met 106 de la *k*-caseína desestabilizando las micelas, con la liberación del caseinoglicopéptido de la *k*-caseína. Aunque la mayoría del cuajo añadido se extrae con el suero, el residual (en torno a un 6% del total) desempeña un papel muy importante en las primeras etapas de la proteólisis.

Su mecanismo de acción está bien establecido (Grappin y col., 1985; Barlow y col., 1989; Fox, 1989; Guinee y Wilkinson, 1992; Van den Berg y Exterkate, 1993). Su actividad proteolítica inespecífica se manifiesta a lo largo de la maduración, con la formación de péptidos de alto peso molecular, siendo la cantidad de aminoácidos liberados prácticamente nula. Esta acción proteolítica poco profunda es, sin

embargo, muy importante (Holmes y col., 1977; Stadhouders y col., 1977) porque juega un papel esencial en el desarrollo de parte de la flora secundaria, como los lactobacilos mesófilos y las bacterias propiónicas, imprescindibles para el desarrollo de las características típicas de muchas variedades de quesos. De acuerdo con Mathensson (1981), la concentración y actividad del cuajo residual varía sustancialmente con los diferentes tipos de quesos: es activo en el Cheddar después de tres meses de maduración, pero no en el Mozzarella ni en los quesos suízos debido a la alta temperatura a la que se somete la pasta, ya que temperaturas de 52-56°C reducen considerablemente su actividad (Delacroix-Buchet y Fournier, 1992). Parece ser, que cuando la temperatura supera los 40°C se produce una cierta inhibición de la quimosina y que ésta, es prácticamente inactivada en 14 minutos en el queso a 54°C y pH 6,4 (Garnot, 1985). Su acción también se ve limitada a un rango de pH entre 4,5 y 6,5. Otras enzimas coagulantes, como la pepsina, especialmente la de cerdo, son más sensibles al pH que la quimosina, de tal manera que si se aumenta el pH de la cuajada al desuerar hasta aproximadamente 7 se producen cuajadas libres de enzima coagulante (O' Keeffe y col., 1976, 1978). De los cuajos provenientes de *Mucor* tan sólo se retienen un 2-3% independientemente del pH (Creamer y col., 1985).

Por otra parte, el cuajo juega también un papel importante en el desarrollo de sabores amargos habiéndose establecido que la cantidad residual de enzima está directamente relacionada con su aparición (Visser, 1977a; Visser y col., 1983; Lemieux y Simard, 1991, 1992).

Durante la coagulación de la leche las caseínas α_{s1} , α_{s2} , y β no son hidrolizadas, pero sí durante la maduración. Un gran número de autores han investigado la hidrólisis de la β caseína por la quimosina. En solución 0,05M de tampón acetato sódico pH 5,4 rompe a la β caseína en 7 lugares (Visser y Slangen, 1977) resultando inhibida por un 5% de Na Cl y completamente por el 10% (Mulvihill y Fox, 1978).

Sobre la α_{s1} el primer lugar de acción es el enlace Phe 23 - Phe24 dando lugar a un ablandamiento de la textura, resultando el péptido α_{s1} -CN /1-23 rápidamente hidrolizado por las proteasas bacterianas.

I.2.5.2. - Proteasas de la leche

La proteasa nativa mayoritaria de la leche es una proteasa alcalina, la plasmina (fibrinolisisina, EC 3.4.21.7) bastante termoestable. Su actividad incluso se ve incrementada tras los tratamientos de pasterización, por inactivación de inhibidores naturales (Noomen, 1975; Farkye y Fox, 1990) o por la existencia de un precursor que es activado por el calentamiento (Rollema y col., 1981). Su pH óptimo es de 7,5 a 8 (Grufferty y Fox, 1988; Fox y Law, 1991), pero es aún activa en las condiciones que se establecen en la coagulación y maduración (Kaminogawa y col., 1972), y su actividad está determinada, además de por el pH y la concentración de NaCl, por el contenido en humedad de los quesos y la temperatura de maduración (Creamer, 1975; Noomen, 1978a). Contribuye ligeramente a la proteólisis de varios tipos de quesos por la formación de γ -caseína a partir de la caseína β , especialmente en los quesos de tipo Gouda (Creamer, 1975), Camembert (Trieu-Cuot y Gripon, 1982), Emmental (Ollikainen y Nyberg, 1988), Gruyère (Delacroix-Buchet y Trossat, 1991) y Cheddar (Richardson y Pearce, 1981; Farkye y Fox, 1991). También se ha demostrado que posee actividad específica sobre la α_{s2} -caseína (Le Bars y Gripon, 1989; Visser y col., 1989), produciendo del orden de 14 péptidos, algunos de los cuales pueden producir amargor. Investigaciones realizadas con cuajadas asépticas han demostrado que da origen a pequeñas cantidades de aminoácidos y péptidos solubles (Visser, 1977b), siendo su principal contribución la liberación de NST (Farkye y Landkammer, 1992). Aunque la plasmina es menos activa sobre la α_{s1} caseína, puede actuar sobre ella formando γ -caseína (Le Bars y Gripon, 1993; Mc Sweeney y col., 1993c).

La actividad de la catepsina D fue descrita por Kaminogawa y col., (1980). Es relativamente lábil al calor y su pH óptimo de actuación es 4. La especificidad no ha sido determinada aunque los electroferogramas de las caseínas incubadas con la proteasa ácida de la leche o catepsina D (Mc Sweeney y col., 1995) indican que es muy similar a la de la quimosina aunque sorprendentemente encontraron que posee poca actividad coagulante.

Se ha descrito (Reimerdes, 1983) la presencia en la leche de otras enzimas minoritarias que incluyen trombina y una lisina aminopeptidasa. Las proteasas de los leucocitos pueden ser activas durante la maduración de los quesos (Verdi y

Barbano, 1991). Algunos autores (Kelly 1995) comparando la proteólisis en queso Gouda fabricado a partir de diferente leche con los mismos recuentos de células somáticas y diferentes niveles de leucocitos polimorfonucleares (PMN) encontraron que se producía más rápidamente α_{s1} -I-caseína y aminoácidos libres en los quesos hechos con más altos niveles de PMN.

1.2.5.3. - Enzimas producidas por microorganismos

La mayoría de los microorganismos que crecen en la parte interna o en la superficie de los quesos, ya sea intencionadamente añadidos, o accidentalmente presentes, poseen proteasas endo y exocelulares y diversas peptidasas que actuarán durante la maduración.

Aunque las bacterias lácticas (LAB) son débilmente proteolíticas juegan un papel de gran importancia, ya que poseen un gran número de proteasas que han sido detalladas por Desmazeaud y Zevaco (1979) y cuyo esquema de actuación ha sido resumido por Thomas y Pritchard (1987), Visser (1993), Fox y col., (1993), Monnet y col., (1993), Bockelmann, (1995), Exterkate, (1995) y Law y Haandrikman, (1996), entre otros. Su intervención en la proteólisis no debe ser considerada aisladamente ya que la acción de las bacterias lácticas es complementaria a la del cuajo y otras proteasas presentes en la leche, originando péptidos cortos y aminoácidos, a partir de los péptidos liberados en los estadios iniciales de la maduración, que van a ser los principales precursores del aroma del queso.

La actividad proteolítica de los lactococos se debe fundamentalmente a sus exopeptidasas (Visser, 1993; Tan y col., 1993), que en estos microorganismos pueden ser muy activas debido posiblemente a que su localización es extracelular, si bien varían mucho entre especies y cepas. También se ha descrito que estos microorganismos poseen proteasas intracelulares (Law y Kolstad, 1983; Ichishima y col., 1986; Muset y col., 1989; Chapot-Chartier y col., 1994) pero su acción parece estar más restringida, debido a que es necesaria la autólisis para la liberación de las enzimas. Se ha descrito que poseen al menos 2 endopeptidasas, que pueden hidrolizar los péptidos liberados de las caseínas que contengan hasta 34 residuos, y 3 aminopeptidasas (una aminopeptidasa, PepN, una glutamil/aspartilaminopeptidasa, PepA, y una tiol aminopeptidasa, PepC), además de una peptidil

aminopeptidasa, PepX; Poseen también una tripeptidasa y 3 dipeptidasas, una general, y 2 específicas para la prolina (prolinasa, ProX y prolidasa, Xpro) por lo que los lactococos pueden metabolizar péptidos ricos en prolina. Sorprendentemente, no poseen ninguna carboxipeptidasa. Los lactobacilos poseen un variado equipo enzimático; en el caso de las especies mesófilas está principalmente constituido por exopeptidasas, mientras que las termófilas poseen además endopeptidasas plasmáticas muy importantes (El-Soda y col., 1978; Turner y col., 1983). Se puede afirmar que, por lo general, los lactobacilos son más proteolíticos que los lactococos (Castberg y Morris, 1976) y de ellos, las especies termófilas más que las mesófilas (Bartels y col., 1987). Los sistemas proteolíticos de los leuconostocs no han sido muy estudiados, aunque estos microorganismos se incluyen como iniciadores en los quesos suizos y en los azules. Los leuconostocs son heterofermentativos y su principal función en los quesos es producir CO₂ para la formación de los ojos en los quesos suizos y la textura abierta en los azules. Su sistema proteolítico presumiblemente actúa, pero estos quesos poseen otras enzimas más efectivas, por ej. en quesos de pasta azul es predominante el *P. roqueforti*. Algunos autores (Ezzat y col., 1993) han estudiado las proteasas de la pared celular de *Leuconostoc mesenteroides* encontrando también una actividad peptidasa.

Las enzimas proteolíticas de las levaduras no han sido muy estudiadas, parece que su actividad, variable según las diferentes especies y cepas, radica en el interior de la célula, siendo especialmente importantes las exopeptidasas (Schmidt y col., 1979).

Los mohos ejercen una acción profunda liberando también péptidos de alto y bajo peso molecular, así como aminoácidos.

Las proteasas del género *Penicillium* han sido muy estudiadas. Tanto *P. roqueforti* como *P. camemberti* producen aspartil y metaloproteasas (Kinsella y Hwang, 1977; Gripon, 1987, Trieu-Cuot y col., 1982 a y b). Estos microorganismos poseen un sistema proteolítico complejo caracterizado por la presencia de endopeptidasas exocelulares que degradan profundamente las caseínas α_{s1} y β , y varias exopeptidasas que actúan de forma muy activa sobre los péptidos presentes y dan origen a cantidades elevadas de aminoácidos (Desmazeaud y col., 1976; Paquet y Gripon, 1980; Gripon y col., 1991).

La importancia de la contribución de las proteasas de otros microorganismos no está bien establecida, aunque se han descrito actividades exopeptidásicas en *Brevibacterium linens* cuyo nivel y naturaleza varía según las cepas (Sorhaug, 1981; Hayashi y col., 1990; Gripon y col., 1991; Clancy y O'Sullivan, 1993). Se ha observado que los micrococcos poseen tanto actividad proteásica exocelular (García de Fernando y Fox, 1991) como intracelular (Bhowmik y Marth, 1988), dirigiendo su acción principalmente sobre la α_s - y β -caseína, las exocelulares y sobre la β -caseína, las intracelulares. Los estreptococos del grupo D pueden también participar en la proteólisis del queso; su actividad ha sido muy estudiada, principalmente en *Enterococcus faecalis* que posee una enzima particularmente activa sobre la tirosina, provocando con ello el desarrollo de un intenso aroma característico. Tiene también una proteasa extracelular (pH 7,6) que parece actuar sólo sobre la β -caseína liberando péptidos de bajo peso molecular (Schmidt y Lenoir, 1972). García de Fernando y col, (1992) demostraron que al añadir diversas cantidades de una proteasa extracelular de *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens* se producía un incremento, respecto al control del contenido en aminoácidos libres, lo que permitía una aceleración en el proceso de maduración del queso.

Los estudios realizados sobre la proteólisis de los quesos Emmental y Gruyère han demostrado el papel importante que desempeñan las bacterias propiónicas, que además de ser esenciales para la formación de los ojos característicos de estos quesos, intervienen en el desarrollo del aroma, como en el caso del Emmental (Langsrud y col., 1978; Law, 1984a), habiéndose demostrado que también participan en la liberación de la prolina, agente responsable del sabor característico de este queso.

1.2.5.4. - Otras enzimas

Cabe resaltar la acción de las fosfatasa, sobre todo la fosfatasa ácida y de otras proteasas no coagulantes. La fosfatasa alcalina, de pH óptimo en torno a 6,8, no posee prácticamente actividad sobre las caseínas (Lorient y Linden, 1976); se encuentra en la leche asociada a la membrana del glóbulo graso y por tanto, podría concentrarse en el queso. Sin embargo, se destruye totalmente por los tratamientos de pasterización altos, mientras que la fosfatasa ácida, presente en la fase acuosa,

es más estable al calor y a los pHs del queso, y puede actuar desfosforilando los péptidos liberados por la acción previa del cuajo, de la plasmina y de otras proteasas bacterianas (Fox y Stepaniak, 1993). A pesar de ello, el papel desempeñado por ambas enzimas está poco claro siendo necesarios estudios adicionales (Fox y col., 1993).

Respecto a las proteasas no coagulantes que se añaden en algunas ocasiones para acelerar el proceso madurativo, podrían destacarse las siguientes: aspartil-proteinasa ácida de *Aspergillus oryzae*, proteinasa neutra bacteriana de *Bacillus subtilis*, proteinasa alcalina de *Bacillus licheniformis* y proteinasa de *Streptomyces griseus*. Sin embargo, su utilización estaría restringida porque sería necesario resolver para cada tipo de queso varios problemas, como la elección de las enzimas, su secuencia de actuación, el periodo más favorable para su adición o las modificaciones eventuales de los factores tecnológicos, así como el control de los defectos del aroma y textura que con alguna frecuencia aparecen tras su uso (Law, 1984b; El-Soda, 1993).

I.3. - CLASIFICACIÓN DE LOS QUESOS

En alguna ocasión se ha llegado a decir que hay más de 3000 variedades diferentes de quesos (Scott, 1986). Sin embargo, en términos más reales, se podría considerar la existencia de unos 200 tipos perfectamente diferenciados y con entidad suficiente, que podrían incluirse en alguno de los siguientes grupos:

A.- Según el sistema de coagulación de la leche:

- Quesos al cuajo
- Quesos ácidos
- Combinaciones de ambos sistemas

B.- Según la textura:

- Quesos compactos (sin ojos)
- Quesos con ojos redondeados
- Quesos granulares, con ojos de forma irregular

C.- Según el tipo de microorganismo utilizado en la maduración:

Quesos veteados debido al crecimiento de *Penicillium*

Quesos de moho blanco

Quesos con desarrollo bacteriano en la corteza.

D.- Según su contenido en grasa sobre extracto seco (clasificación seguida por el Código Alimentario Español).

Doble grasos: con más de un 60% de grasa

Extragrasos: con un mínimo del 45% de grasa

Grasos: con un mínimo del 40% de grasa

Semigrasos: con un mínimo del 25% de grasa

Magros: con menos del 25% de grasa

E.- Según el proceso seguido para su elaboración:

Quesos frescos y blancos pasterizados

Quesos afinados, madurados o fermentados.

Quesos fundidos.

La necesidad de clasificar los quesos y de establecer una distinción clara entre las diferentes variedades, ha llevado recientemente a una serie de autores a efectuar un esfuerzo de sistematización que ha culminado con la aparición del Catálogo de la FIL (Documento nº 141, 1981). En él se hace una descripción sistemática de los quesos más importantes del mundo, incluyendo para cada uno de ellos los siguientes datos relevantes.

1.- País de origen

2.- Leche de partida: de vaca, oveja, cabra, búfala, etc.

3.- Tipo de consistencia: duro, semiduro, blando, fresco, de coagulación ácida, queso de suero.

4.- Características internas: ojos grandes y redondos, ojos medios y redondos, ojos pequeños y redondos, ojos irregulares, sin ojos, con mohos azules, verdes, blancos, con adición de especias, hierbas, etc.

- 5.- Características externas: corteza dura y seca, corteza dura recubierta de limosidad, corteza blanda con mohos blancos, corteza blanda con mohos verdes, corteza blanda recubierta de parafina, sin corteza.
- 6.- Peso del queso
- 7.- Porcentaje mínimo de grasa sobre extracto seco.
- 8.- Porcentaje máximo de agua.
- 9.- Porcentaje medio de agua sobre extracto seco magro.

La labor de tipificación de cualquier queso es un proceso laborioso. Debe comenzar por la estandarización y definición exacta de su tecnología de fabricación. La forma de llevar a cabo todas y cada una de las etapas, desde la selección de la leche hasta la maduración, va a influir de forma definitiva sobre las características fisico-químicas y organolépticas del producto final. Es importante conocer la especie de procedencia de la leche utilizada, el grado de acidez de la misma en el momento de la coagulación, la temperatura y la cantidad y naturaleza de la enzima coagulante utilizada. Debe también controlarse el tiempo de formación de la cuajada y las condiciones en que se lleva a cabo el desuerado, la temperatura a la que se realiza y el trabajo al que se somete la cuajada que van a influir en la intensidad del proceso y consecuentemente, en el contenido en humedad y en otros componentes, como lactosa y sales minerales del queso. La cantidad de lactosa retenida en la cuajada incide en el grado de acidificación de la misma y en el desarrollo del aroma en algunos casos y el contenido en sales minerales determina la capacidad tampón e influye en la textura del producto.

El grado de salazonado afectará a la supervivencia y actividad de los microorganismos que constituyen la flora microbiana y de las enzimas responsables de las transformaciones que ocurren durante el proceso madurativo.

Por último, las condiciones de maduración (duración y condiciones ambientales de los lugares donde se lleva a cabo) determinan las pérdidas de humedad experimentadas por el producto, así como la intensidad de las reacciones químicas que tienen lugar durante este periodo.

Por tanto, si se consigue normalizar el procedimiento de fabricación controlando debidamente aquellos parámetros más importantes, que inciden en el

proceso específico de elaboración de cada tipo de queso, tendremos muchas garantías de obtener un producto de calidad y asegurar la uniformidad entre las distintas fabricaciones.

La segunda fase del proceso de tipificación comprendería el estudio del producto final, mediante el conocimiento de su composición química global y de algunos parámetros fisicoquímicos, como el pH y la actividad del agua. El contenido en humedad, grasa y proteína fundamentalmente determinará las propiedades reológicas del queso, además de su valor nutritivo. El pH y la a_w regulan la actividad de los microorganismos y enzimas y por ello, van a determinar en buena medida las características organolépticas.

También es importante conocer la extensión y profundidad de las reacciones glucolíticas, lipolíticas y proteolíticas que serán determinantes de las características generales de cada tipo de queso.

I. 4. - PRINCIPALES QUESOS ESPAÑOLES

España es un país con una gran tradición quesera y por tanto, tiene una oferta muy amplia de quesos.

El Catálogo de Quesos Españoles de 1990 (MAPA, 1990) describe 81 variedades y en el Inventario Español de Productos Tradicionales de la Tierra elaborado entre los años 1994 y 1995 (Mercasa, 1995) se han relacionado un total de 90 variedades, muchas de las cuales presentan bajos niveles de producción y por tanto, son poco conocidas, aunque la mayor parte gozan de una excelente calidad.

La Comunidad Europea produce aproximadamente la tercera parte del total de los quesos que se fabrican en el mundo; sin embargo, el aporte de España a la producción de queso es francamente bajo, mientras que la producción de leche de vaca en España supone un 5,2%, en relación a la producida por los países miembros de la CEE, la producción de queso supone, tan sólo un 2,75%, porcentaje muy alejado del de otros grandes productores como Francia, con un 27,2%; Alemania, con un 23,8% o Italia, con un 16%. Sin embargo, en estos últimos años se está experimentando un continuo aumento, tanto en la producción, como en el consumo. Según Herrero (1992) durante la década del 80-

90 se ha operado un crecimiento acumulado del 39%. En el año 1994 se llegaron a producir 159.000 Tm (Anuario Estadístico, MAPA, 1994), cantidad a la que habría que añadir la producción artesanal, difícilmente estimable, pero que puede llegar a alcanzar las 25.000 Tm (Herrero, 1992)

Este aumento de la producción y consumo de queso en buena parte se debe a las medidas de protección de los productos alimentarios, que se han tenido que tomar para adaptar la legislación española a la Comunitaria. También ha contribuido el aumento experimentado por la demanda de productos tradicionales, que ha hecho surgir un gran número de pequeñas queserías muy diseminadas por todo el país y que han logrado la recuperación de un gran número de variedades de quesos españoles de un alto grado de calidad. El estado actual del conocimiento científico de todos estos quesos es variable. En el comercio exterior ha habido también una evolución ascendente y aunque en términos relativos las exportaciones de quesos han sufrido un aumento espectacular, en la realidad no son demasiado importantes.

En estos últimos años se ha realizado un gran esfuerzo para conocer las características bioquímicas y microbiológicas de los quesos españoles, pero la información existente está muy dispersa en publicaciones de carácter nacional e internacional, resultando a veces complicado acceder a ella. En este trabajo se ha intentado recoger la mayor parte de esta información, que podrá resultar útil para la puesta a punto de sistemas de fabricación de alguno de estos quesos españoles en Brasil, país cuya tradición quesera es prácticamente inexistente. Los quesos de mayor consumo en Brasil son Mozzarella, Prato, Frescal y Parmesão, siendo tanto la producción como el consumo en cifras absolutas muy pequeños. La producción en 1997 fue de 430.000 Tm y el consumo actualmente está cifrado en de 3Kg/año/persona (ABIQ, 1998). Todos ellos son de vaca, siendo el denominado queso Prato uno de los más populares de Brasil (Furtado y Lourenço, 1997). Este queso fue introducido en el país en los años 20, en la región sur de Minas Gerais, a través de inmigrantes daneses. La tecnología de su elaboración fue adaptada a las condiciones locales, lo que explica las diferencias en el sabor y textura en relación a los quesos que le dieron origen. Es un queso de coagulación mixta, de pasta lavada y semicocida, y de sabor suave.

Hay otros tipos de quesos, Lanche, Estepe, Bola y Cobocó, que son considerados variedades del queso Prato. La composición media de todos ellos es la siguiente: Humedad: 42-44%; Grasa: 26-29%; Sal: 1,6-1,9%; pH: 5,2-5,4.

El queso Minas Frescal es obtenido por coagulación enzimática de la leche por acción del cuajo, complementada a veces por la acción de bacterias lácticas. Son quesos pequeños de unos 500g. Está clasificado, según las Normas del Ministerio de Agricultura como un queso semigraso. Su composición media es: Humedad: 55-58%; Grasa: 17-19%; pH: 5,3-6,1

I.4.1. - Clasificación de los quesos españoles

De las múltiples clasificaciones existentes, quizás las expuestas por Herrero (1992, 1996) sean las que mejor se adaptan para describir todas las variedades; tienen además la ventaja de que pueden emplearse a nivel comercial. Según este autor, los quesos españoles pueden agruparse en:

a) QUESOS FRESCOS

- 1.- **De vaca:** Tipo Burgos y Villalón
- 2.- **De cabra:** Alicante, Cádiz, Camerano y Murcia
- 3.- **De mezcla:** Cassoleta, La Nucía, Mató, Pido, Porrúa, Tenerife.

b) QUESOS TIERNOS

- 1.- **De vaca:** Cantabria, Afuega'l Pitu, Ulloa o Arzúa, Cebreiro, De León, Pasiego, La Selva, Tetilla, Vidiago.
- 2.- **De cabra:** Babia y Laciana, Garrotxa, Málaga, La Vera.
- 3.- **De oveja:** La Bureba, Cáceres, Torta del Casar.
- 4.- **De mezcla:** Beyos, Flor de Guía, Quesuco, Servilleta.

c) QUESOS SEMICURADOS Y CURADOS:

- 1.- **De vaca:** Benasque, Casín, Mahón, SAN SIMÓN, Valle de Arán.
- 2.- **De cabra:** Acehuche, Albarracín, Alhama de Granada, Aracena, Buelles, Conejero, Gata Hurdes, Ibores, Majorero, Montsec, De Murcia al Vino, Palmero, Quesaílla, Sierra Morena, Tiétar, Valdeteja.

3.- **De oveja:** Anso-Hecho, Castellano, Idiazábal, Manchego, Oropesa, Pedroches, Roncal, La Serena, Serrat, Zamorano.

4.- **De mezcla:** Ahumado de Aliva, La Calahorra, Genestoso, De La Gomera, Grazalema, Herreño, Mallorquín, Peñamellera, Tronchón, Ibérico, Hispánico, De la Mesta.

d) QUESOS AZULES: Cabrales, Gamonedo, La Peral, Picón, Valdeón.

e) QUESOS ESPECIALES: La Armada, Urbiés, Crema de queso azul (Valdeón), Cremas de coagulación láctica, con o sin sabores, con especias, etc.

Actualmente, 13 de ellos poseen la correspondiente Denominación de Origen (D.O.), otros 6 disponen de la Denominación de Origen aprobada por sus comunidades autónomas respectivas, y otros 5 tienen la Denominación de Calidad regulada por las comunidades autonómicas correspondientes.

I.5. - DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LOS PRINCIPALES QUESOS ESPAÑOLES

I.5.1. - Quesos frescos

Las características generales de los quesos frescos son las siguientes:

Se elaboran a partir de leche pasteurizada para garantizar su calidad higiénica. Tienen un alto contenido en humedad, del 60% o en algunos casos, del orden del 80%. La coagulación de la cuajada es fundamentalmente ácida, proporcionando un producto de textura más suave y de mayor conservabilidad, por su bajo pH. El consumo debe ser inmediato, ya que se conservan periodos de tiempo cortos.

En su proceso de elaboración la leche se pasteuriza en las condiciones habituales, se enfría a 18-20°C y se le añaden las bacterias lácticas acidificantes y una pequeña proporción de cuajo (1-5 mL de fuerza 1/10.000 por cada 100 L. La coagulación se completa en unas 12-24 h. Como las cuajadas lácticas no

soportan bien la presión, el desuerado se realiza con telas o en los mismos moldes sin aplicar presión o sólo de forma muy ligera, tras lo cual, se añade sal y en ocasiones otros componentes, por ejemplo, ciertas especias o aromatizantes (azúcar, cebolla, ajo, etc.) con el fin de disimular el sabor ácido. Son variedades de producción muy limitada y artesanal o a lo sumo semiindustrial Su difusión se encuentra prácticamente restringida a las zonas de elaboración, con la excepción de algunos, como el tipo Burgos o el de Alicante o el de Cádiz. Es necesario someterles a refrigeración durante la distribución y consumirles a los 3-5 días después de su fabricación.

I.5.1.1. - Quesos frescos de vaca

Tipo Burgos y Villalón. Se elaboran en la comarca de Tierra de Campos, aunque el queso tipo Burgos actualmente se fabrica en toda España a nivel industrial. Originariamente se elaboraba con leche de oveja, aunque hoy día se utiliza casi siempre leche de vaca, o bien mezcla de vaca y oveja, coagulándose fundamentalmente por acción del cuajo, al igual que el queso Villalón, lo que contradice el esquema general de elaboración anteriormente expuesto. Se hace así porque se obtiene un rendimiento quesero más elevado y un producto más firme y flexible lo que facilita el troceado en el momento de la venta. En ambos casos se obtienen quesos grasos. **El queso tipo Burgos** ha sido estudiado por Marcos y col., 1983 c; Núñez y col., 1986; García y col., 1987; Millán y col., 1990 y Medina y col., 1992 b. Tiene forma cilíndrica, con un peso y dimensiones variables llegando hasta 2,5 Kg como máximo por pieza. La pasta es muy blanda, blanca, ligeramente salada y de sabor suave.

Las características principales según Millán y col., (1990) son las siguientes: Humedad: 57,61%; Proteína: 38,79±3,21 sobre ES; Grasa: 54,08±3,31; Cenizas:5,72±1,13%; Ácido láctico:1,41±0,22%. La actividad del agua presentó valores medios de 0,99±0,01 y el pH de 5,78±0,13, alcanzando el NST valores de 14,71±2,51 /100 g de NT de los que el NNP representó un 2,31±0,77%.

El queso **Villalón** también ha sido bastante estudiado. Su composición global ha sido descrita por Marcos y col., 1985 ; Chávarri y col., 1985 y Millán y col., 1991. Se conoce también con los nombres de “pata de mulo”, “largo” y “de

encilla". Se elabora en toda la Tierra de Campos (Valladolid, León y Zamora) y más concretamente en las localidades de Villafrades de Campos, Villalón de Campos y Guadilla de Rioseco, aunque como se comentó anteriormente hoy la industria quesera lo está produciendo en toda España. Es un queso elaborado originalmente con leche de oveja churra, mezclándose actualmente con leche de vaca. De pasta blanda, no cocida, escurrida y ligeramente compacta. De graso a extragrasso, de color blanco hueso y sin corteza, de corte cerrado, húmedo y con escasos y pequeños ojos.

Por razones legales sólo se puede utilizar leche pasteurizada. Posee un contenido en humedad entre el 57 y el 58%, un porcentaje de grasa que oscila entre el 21 y el 26% (un 53% sobre ES); proteína:39% sobre ES, fluctuando mucho el contenido en ácido láctico, con valores medios de $0,77 \pm 0,39$ sobre ES, mucho más alto que el que presenta el queso de Burgos. Las cenizas alcanzan valores del 8% sobre ES.

El Nitrógeno Soluble alcanzó un valor medio de $11,51 \pm 1,63\%$ del NT representando sólo un 2% el NNP. Presenta una actividad del agua de $0,98 \pm 0,01$ y un pH de $6,3 \pm 0,76$.

I.5.1.2. - Quesos frescos de cabra

Alicante, Cádiz, Camerano (parte sur de La Rioja y norte de Soria) y Murcia.

Son quesos frescos o ligeramente oreados, de coagulación enzimática. Pueden ser considerados como grasos o extragrassos. De todos ellos, ha sido estudiada la composición global del queso de Cádiz y Málaga (Alcalá y col., 1982; Esteban y col., 1982; Marcos y col., 1983 a y b).

Sus características son muy similares a las de los anteriores, aunque poseen una mayor proporción de grasa y proteína y un sabor peculiar, por la leche de procedencia.

I.5.1.3. - Quesos frescos de mezcla

Cassoleta (provincias de Castellón y Valencia). La Nucía (de la localidad de su nombre, en Alicante), Mató (en toda Cataluña), Pido (Cantabria), Porrúa (Asturias) y Tenerife.

Son quesos con un contenido en grasa muy variado. Así, podrían clasificarse de semigrasos a grasos, o en algún caso, extragrasos. Se elaboran mediante un procedimiento de coagulación enzimática, excepto el Pido que es de coagulación láctica. La pasta obtenida es compacta, pero blanda. La particularidad del sistema de coagulación les confiere una mayor firmeza, lo que posibilita su troceado en el momento de la venta. Alguno de ellos pueden madurarse como el Porrúa y en ocasiones se ha descrito que se elabora con leche de vaca (Moro y col., 1993 a). La maduración le confiere una coloración ligeramente amarillenta formándose una corteza rugosa. Este queso, según los autores anteriormente citados tiene un 52,4% de ES, un 52,2% de grasa y un 38,78% de proteína sobre ES, un pH de 4,6, una a_w de 0,959, un 3,4% de cenizas, un 0,67% de Ca y un 4,2% de P. Para el resto de los quesos de este tipo, los únicos datos que hemos encontrado son los que figuran en el Catálogo de quesos de España (1990).

I.5.2. - Quesos tiernos

Estos alcanzan ya un grado determinado de maduración, lo que hace que esten más diferenciados. Tienen un sabor lácteo y en algunos casos mantecoso, ligeramente ácido y salado suave. Según Lafuente (1993) y Lafuente y col., (1995) las variables más discriminativas y con mayor protagonismo en la diferenciación de dos quesos de este grupo, el Pasiego y el Cebreiro, son los contenidos en ácido D-láctico, cloruro sódico, calcio, fósforo y nitrógeno amínico, así como los valores de pH y de a_w y parece muy posible que esta conclusión se pueda ampliar para la diferenciación de todos aquellos que han sufrido un corto periodo madurativo. Hay que tener en cuenta que alguna de estas variables están directamente relacionadas con la tecnología de elaboración mientras que otras, como por ejemplo, el contenido en ácido D-láctico estará posiblemente ligado al tipo de flora que ha desarrollado su actividad en el queso.

En líneas generales, por su alto contenido en humedad todos estos quesos presentan altos valores de actividad del agua por lo que son muy susceptibles al desarrollo de microorganismos, entre ellos los productores de infecciones o intoxicaciones alimentarias, ya que la mayoría de las bacterias no halófilas presentan la mayor velocidad de crecimiento y multiplicación a valores de a_w comprendidos entre 0,98 y 0,997.

La actividad del agua no es el único parámetro que determina el crecimiento microbiano, sino que éste también depende de otros factores, como el pH, la presencia de sustancias conservadoras, la temperatura o la existencia de otros microorganismos que puedan competir. En este sentido, juega un papel importante la flora ácidoláctica que es la dominante en este tipo de quesos, y puede frenar el desarrollo de potenciales contaminantes patógenos, contribuyendo así a la estabilidad de estas variedades. Estos factores mencionados no sólo actúan aisladamente, sino en combinación, de modo que los efectos se verán potenciados y con ello su acción inhibidora global.

En cualquier caso, el mantenimiento de estos quesos a temperaturas de refrigeración es esencial si se quiere garantizar su conservabilidad y su calidad higiénica y sanitaria. Por ejemplo, se ha descrito que *Staphylococcus aureus* no crece por debajo de 7°C y no produce enterotoxinas por debajo de 10°C (Smith y col., 1983). En el caso de Salmonellas, las temperaturas más bajas a las que se ha detectado crecimiento fueron 5,3°C para *Salmonella heidelberg* y 6,2°C para *Salmonella thyphimurium* (Matches y Liston, 1968).

1.5.2.1. - Quesos tiernos de vaca

Cantabria, Afuega'l Pitu (parte occidental de Asturias), Ulloa o Arzúa (Galicia), Cebreiro (montaña de Lugo, colindante con León), De León, Pasiego (valle del Pas, Cantabria), La Selva (Gerona), Tetilla (Galicia), Vidiago (Llanes, Asturias).

El queso de Cantabria es de coagulación enzimática y de pasta lavada, de graso a extragrasso. **El Afuega'l Pitu** es de coagulación láctica y de pasta blanda con corteza enmohecida, y opcionalmente pimentado en su interior, de semigraso a graso (Moro y col., 1993 b) . En el paladar resulta algo áspero y

seco, un poco difícil de tragar, de ahí su nombre tan especial, aunque esta circunstancia sea del agrado del consumidor. En algunas ocasiones, se elaboran con un grado mayor de curación, de dos a cuatro meses y en éstos el interior amarillea y en el exterior se forma una corteza ocre, a la vez que el sabor se hace algo picante. **El de Ulloa o Arzúa**, que se elabora en toda la comunidad autónoma de Galicia, principalmente en las provincias de La Coruña, Lugo y Pontevedra, también se conoce como “queso gallego” o “patela”. Es de coagulación mixta, aunque predominantemente enzimática y de pasta compacta pero blanda. Contiene del orden del 50% de grasa sobre extracto seco y se presenta en unidades de forma cilíndrica con pesos comprendidos entre los 500 y 2500 g. Tradicionalmente se fabricaba con leche de vaca sin pasteurizar que los artesanos cuajan a temperaturas de 30 a 34°C, añadiendo de 15 a 30 ml de cuajo por cada 100 L de leche. La cuajada, que se forma al cabo de un poco más de media hora, se corta, haciendo luego un desmenuzado a mano hasta tamaño de avellana. El moldeo se hace en paños comprimiendo manualmente. Para el salazonado generalmente se utiliza sal sólida aunque algunas veces añaden sal a la leche o a la cuajada antes del moldeo. La maduración tiene lugar por acción de la flora ácido láctica en hórreos bien ventilados en las condiciones ambientales de la región (alrededor de 15°C) y HR altas (próximas a la saturación si se trata de zonas costeras) durante unos 15 días, aunque puede prolongarse hasta dos meses. En la actualidad tiene la D.O aprobada por la Comunidad autónoma. Su composición química ha sido estudiada por Marcos y col., (1985) y el proceso madurativo por Ordóñez (1974) . La determinación y cuantificación de las fracciones nitrogenadas clásicas determinadas por Ordóñez y Burgos (1977 a) a lo largo de la maduración, indicaron que sufre una proteólisis bastante intensa. La proporción de algunos aminoácidos, como ácido glutámico, isoleucina, leucina, lisina e histidina (Ordoñez y Burgos, 1977 b) alcanzó valores similares en quesos elaborados con leche pasteurizada y adicionada de un cultivo iniciador, propuesto por los autores, que los del queso hecho con leche cruda.

En otro trabajo, estos mismos autores (Burgos y Ordóñez, 1978) encontraron que la principal diferencia entre los quesos elaborados con leche cruda y pasteurizada radicaba en que estos últimos presentaban contenidos más

altos de diglicéridos y ácidos grasos libres, aunque en líneas generales, el perfil de los ácidos grasos libres resultó similar, siendo el mayoritario, el palmítico (C₁₆), seguido del oleico (C_{18:1}) y del mirístico (C₁₄).

Las características microbiológicas han sido también extensamente estudiadas por Ordóñez y Burgos (1977a), Quinto y col., (1992); Centeno y col., (1994) y Centeno y col., (1995 a).

Este queso posee unas características organolépticas bien definidas. Es de pasta blanda, cremosa y sin ojos o con ellos pero de muy pequeño tamaño. De color marfil o amarillo pálido. La corteza es lisa, fina, cerosa, de color amarillo pajizo y sin crecimiento microbiano superficial. El sabor es láctico, suave y graso al paladar y la textura desde cremosa fundente hasta seca-friable, dependiendo fundamentalmente de la época del año en que se ha elaborado (Prieto y col., 1997).

El queso Cebreiro es de coagulación predominantemente láctica y de pasta ligeramente prensada. Se elabora en la montaña Sureste de la provincia de Lugo, colindando con la de León, a partir de leche cruda de vaca. Su forma es característica de hongo o gorro de cocinero, con pesos entre 500 y 2000 g. Tras su elaboración se conserva a temperatura de refrigeración, previamente envuelto en paños húmedos, con el fin de evitar la adquisición de una tonalidad amarillenta y la formación de corteza, y se consume en estado tierno, con a lo sumo 20 días de maduración, aunque en alguna ocasión pueden encontrarse ejemplares más madurados.

Este queso está acogido a la denominación “Producto Gallego de Calidade” desde el año 1991. El proceso de elaboración ha sido descrito por varios autores (Compairé, 1966; Fernández y col., 1990; Fernández Albalat y col., 1996). La leche pasteurizada de vacas de las razas Rubia Gallega, Pardo Alpina y Frisona, se coagula a temperatura entre 30 y 35°C añadiendo 5 ml de cuajo de fuerza 1/10000 por cada 100 L de leche; en ocasiones, se añaden junto con el cuajo pequeñas cantidades de suero procedente de anteriores fabricaciones. El tiempo de coagulación es bastante variable. Una vez cortada la cuajada se deja reposar durante 24 h y se efectúa el desuerado en sacos de lienzo. Tras añadir la sal, se amasa minuciosamente introduciendo la cuajada de nuevo en sacos de lienzo y

éstos en los moldes, con formas de aro sin fondo, dejando que parte de la cuajada sobresalga del molde. Posteriormente, el saco se ata y se ejerce presión sobre la parte superior para que el queso siga perdiendo suero y adopte su forma característica. El tiempo de permanencia en el molde varía entre media hora y una.

El interior es blando, untuoso, con estrías y de color blanquecino, que puede convertirse en laminar, friable y desmenuzable. La corteza es firme, fina, sin crecimiento microbiano alguno y de tonalidad blanca o ligeramente amarillenta según la edad del queso. El sabor es ligeramente ácido y el color blanquecino.

Los datos analíticos que ofrece el Catálogo de quesos españoles (MAPA, 1990) son: Extracto seco: 62%; Grasa, expresado como porcentaje del extracto seco: 45%; Cloruro sódico: 1,45% y pH: 4,9.

La caracterización de este queso ha sido realizada por un grupo de investigación del Area de Tecnología de Los Alimentos, de la Universidad de León (España), (La Fuente, 1993; La Fuente y col., 1995) en el que se analizaron 24 quesos obtenidos en diferentes fabricaciones. Su contenido medio global fue: Extracto seco: 45,4%; Proteína sobre ES: 39,1%; Grasa: 53,2%; Cenizas: 2,95%; Lactosa: 3,61%; Acido L-láctico: 1,18%; Acido D-láctico: 0,3%; Cloruros: 1,57%; Ca: 0,13-0,74%; P: 0,41-0,93; pH 4,3; Acidez titulable: 1,46 g de ácido láctico/100g de ES; actividad del agua: 0,983-0,992. Resulta destacable el hecho de que el contenido de cenizas es muy bajo, debido a la baja proporción de sal que se añade y a la desmineralización de la cuajada, a consecuencia de la acidificación de la misma durante la elaboración.

También en estos estudios se comprobó que este queso sufre una proteólisis muy escasa (NS del orden del 8%); El nitrógeno no proteico (NNP) suponía alrededor del 3% del NT, representando el nitrógeno amínico (NA) un 0,67% del NT y el amoniacal del orden de un 0,4%. Fresno y col., (1995) estudiaron el contenido en macro y microelementos minerales encontrando que posee una proporción baja de calcio, siendo el fósforo el macroelemento cuantitativamente más importante, seguido del sodio y el potasio. Entre los microelementos, el mayoritario fue el zinc, seguido del hierro y del cobre.

Posteriormente, Fernández-Albalat y col., (1996) determinaron la composición química global (extracto seco, proteína y grasa), así como el pH de esta variedad de queso fabricado de forma artesanal. Sus resultados coinciden plenamente con los previamente descritos por La Fuente y col., (1995).

También han sido estudiadas sus características microbiológicas (Quinto y col., 1994; Centeno y col., 1995 b). Los microorganismos que se aislaron mayoritariamente fueron: *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* y *Leuconostoc mesenteroides*.

El queso de León, que en ocasiones se denomina de Oseja de Sajambre, por elaborarse en esta zona, situada en la cabecera alta del río Sella, es un queso de coagulación mixta, predominantemente láctica y de pasta blanda con corteza ligeramente enmohecida. Ha sido estudiado también por nuestro grupo de investigación de la Universidad de León (España), (Prieto y col., 1991; Prieto, 1992; Prieto y col., 1994; Fresno y col., 1995; Prieto, 1999). Se trata de un queso cuya composición global media es la siguiente: Humedad: 33,4%; Proteína sobre ES: 23,7%; Grasa: 38,2%; Cenizas: 2,96%; Lactosa: 1,25%; Acido Láctico: 0,80%. El pH presentó valores medios de $4,48 \pm 0,31$; la acidez titulable de $1,04 \pm 0,25$ g de ácido láctico/100g de ES y la actividad del agua alcanzó valores medios de $0,934 \pm 0,031$.

En el mismo estudio se encontró que, tanto el grado de lipólisis como de autooxidación de la grasa que sufre este queso, resultó muy bajo, con valores de $0,441 \pm 0,54\%$ de ácido oleico y $0,18 \pm 0,2$ mg de malonaldehído/100 g de queso.

El grado de proteólisis experimentado fue también poco extenso, como pusieron de manifiesto los valores medios encontrados para las diversas fracciones nitrogenadas: Nitrógeno soluble (NS): $9,12 \pm 3,83\%$ del NT); Nitrógeno No Proteico (NNP): $5,49 \pm 2,53\%$ del NT). El contenido total de aminoácidos libres encontrado resultó de $180,4 \pm 89,4$ mg/ 100g de materia seca, siendo la fenilalanina el más abundante, aunque la leucina e isoleucina se encontraron también en niveles importantes, dando cuenta de aproximadamente el 17% del total, seguidos de la lisina e histidina que suponían un 15% y la glutamina, con casi un 9% sobre el total. Resultaron escasos la asparragina, la glicina y la metionina, que en conjunto, no llegaban a suponer el 5%. También se ha

estudiado la evolución de los grupos microbianos durante su elaboración y maduración llegando a la identificación de especies en las bacterias ácido-lácticas (Rodríguez Medina, 1995; Rodríguez Medina y col., 1995).

El Pasiago es un queso de pasta blanda, de coagulación enzimática y con la corteza ligeramente enmohecida. Se elabora en zonas del sur de Cantabria y el norte de la provincia de Burgos. Presenta forma de torta más o menos circular y plana, y suele consumirse ligeramente oreado, con unos pocos días de maduración.

La pasta es blanda, de color blanco, de sabor semidulce y olor que recuerda a la leche. Los ojos son de distribución irregular, de forma de almendra, tamaño de una lenteja y de superficie brillante. El Catálogo de quesos españoles (MAPA, 1990) ofrece datos de su contenido en extracto seco (39%), en materia grasa, expresada como porcentaje de extracto seco (48%) y en cloruro sódico (1,5-2%). Este queso ha sido caracterizado también en el Área de Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León (La Fuente, 1993), habiéndose puesto de manifiesto que, tanto las proporciones de extracto seco como de grasa fueron similares a las descritas en el citado catálogo, alcanzando los demás componentes los siguientes porcentajes: Proteína sobre ES: 34%; cenizas: 4,8%; lactosa: 5,3%; ácido L-láctico: 1,8%; ácido D-láctico 0,2%). El calcio presentaba un contenido medio de 1% sobre ES y el fósforo en torno al 0,6%. El valor medio de pH hallado fue de 5,6 y la acidez titulable, en torno a 1,8 g de ácido láctico/100 g de ES. La actividad del agua alcanzó un valor medio de 0,99.

El nitrógeno soluble total representó por término medio el 12,4% del NT y el NNP el 4%, suponiendo el N amoniacal el 0,38% del NT.

El queso de La Selva es un queso de coagulación enzimática y de pasta lavada, no cocida y prensada. No hemos encontrado ningún dato acerca de sus características bioquímicas y/o microbiológicas.

El queso de Tetilla, otro de los quesos con denominación de origen, se produce en toda la Comunidad de Galicia, aunque originariamente se elaboraba de modo artesanal en el sur de La Coruña y en el norte de la provincia de Pontevedra. Es de coagulación mixta, aunque predominantemente enzimática. Se coagula a una temperatura entre 28 y 32°C, obteniéndose una cuajada compacta

al cabo de una a dos horas. Seguidamente, la cuajada se corta hasta obtener gránulos de mediano tamaño. El salazonado puede efectuarse añadiendo sal a la leche o introduciendo los quesos en una salmuera o bien con sal sólida. Es de pasta blanda pero compacta, con pocos ojos, regularmente repartidos y su color es de blanco marfil a amarillento. Su peso oscila entre 0,5 y 1,5Kg. La corteza es fina y elástica, de color pajizo y su aroma es suave y ligeramente ácido y el sabor es láctico, mantecoso, ligeramente ácido, debido probablemente al lavado al que se somete la cuajada con el fin de disminuir la acidez. Su producción ha aumentado considerablemente. En el año 1995 se produjeron más de 100.000 Kg de este queso en las 17 queserías adscritas al Consejo Regulador (Carballo y col., 1997). Los quesos una vez formados se dejan orear en ambiente fresco y ligeramente húmedo durante un mínimo de una semana. Opcionalmente se escaldan con agua ligeramente salada, para conseguir una corteza lisa, cerrada, cerosa y libre de crecimientos microbianos superficiales.

Los estudios realizados sobre esta variedad han abordado solamente los aspectos bioquímicos (Marcos y col., 1985)., Estos autores comprobaron que no difiere mucho en composición de otros quesos de pasta blanda, siendo el calcio el componente mineral mayoritario, seguido del fósforo y del sodio, y entre los microelementos, el zinc, seguido del hierro y del manganeso. Los valores de a_w son elevados y en cuanto a los ácidos grasos, el más abundante es el palmítico (C_{16}), seguido del oleico ($C_{18:1}$), el esteárico (C_{18}) y el mirístico (C_{14}). Los valores hallados para las distintas fracciones nitrogenadas revelaron que sufre una proteólisis moderada. Los parámetros proteolíticos a lo largo del proceso madurativo han sido estudiados por Froufe, (1998) y por Walser, (1999). La composición en ácidos grasos por La Fuente y col., (1993) habiéndose utilizado un análisis discriminante para la diferenciación con otras variedades de quesos españoles (Millán y col., 1996).

El Vidiago, también es de coagulación enzimática y de pasta lavada y prensada. Se parte de leche de vaca pasteurizada que se coagula a una temperatura de 30°C en 40 minutos. Se salazona en salmuera durante unas 12 horas y se pasa a la cámara de maduración donde se mantiene aproximadamente un mes. Presenta una ligera corteza blanco amarillenta y en el interior tiene

algunos ojos pequeños. Tienen forma de paralelepípedo, buen sabor y su peso es de unos 700g (Moro y col., 1993 a; Margolles y col., 1996). Presenta un contenido en ES del 55,7%, de grasa del 43,6%, de proteína del 42,7%, un pH de 5,1 y una a_w de 0,970. También se estudiaron los parámetros proteolíticos (González de Llano y col., 1995) y los aspectos microbiológicos (Margolles y col., 1996; Margalles y col., 1998).

1.5.2.2. - Quesos tiernos de cabra

Babia y Laciana (zona norte de la provincia de León), Garrotxa (Cataluña), Málaga y La Vera (Cáceres).

El queso de Babia y Laciana se fabrica a partir de leche entera y cruda de cabra, de coagulación predominantemente láctica, que se lleva a cabo a una temperatura de 28-30°C añadiendo dosis muy bajas de cuajo (inferiores a 5 mL por cada 100L de leche). Es de pasta blanda, con la corteza ligeramente enmohecida, rugosa, amarillo parduzca o verde azulada; su interior es compacto, con ojos pequeños repartidos por todo el corte y pasta de color blanco; sabor ácido, poco salado, textura gelatinosa que puede volverse laminar y mantecosa al paladar. Se presenta en unidades de forma cilíndrica irregular y pesos comprendidos entre 0,5 y 1 Kg. El salazonado se realiza por adición de sal a la leche en proporción de un 0,2%. Transcurridas 24 h desde la adición del cuajo, la cuajada se transfiere a sacos de lienzo para que empiece el desuerado, que se termina en los moldes. La maduración se lleva a cabo a 15-20°C y con una HR del 70-85%. Los quesos se voltean y se cepillan periódicamente. Argumosa y col., (1992) realizaron un estudio detallado sobre la composición global, resultando ser la siguiente: Humedad: 27,3%; Proteína sobre ES: 25,6; Grasa: 60,47%; Cenizas: 2,19%; Lactosa: 0,42%; Ácido láctico: 1,19%; Cloruros: 0,93%.

Aunque su acidez titulable no es demasiado elevada ($1,6 \pm 0,4\%$ de ácido láctico) presentó un pH extraordinariamente bajo ($3,8 \pm 0,4$) posiblemente debido a la escasa capacidad tampón por la fuerte desmineralización que sufre la cuajada.

Este queso también sufre una proteolisis muy ligera, como pusieron de manifiesto los valores hallados para el nitrógeno soluble ($9,8 \pm 3,6\%$ del NT). Asimismo, los bajos valores que presentó el índice de acidez de la grasa

($0,33\pm 0,13\%$ de ácido oleico) y el índice del TBA ($0,24\pm 0,15$ mg de malonaldehído/100 g de queso), evidenciaron que tanto los fenómenos de hidrólisis como de oxidación de los lípidos tienen escasa relevancia en este tipo de queso. Franco y col., (1995), Prieto y col., (1996) y Franco y col., (1996) estudiaron los cambios bioquímicos durante la maduración, la evolución de los componentes minerales y los fenómenos proteolíticos.

El queso de La Garrotxa es típico de toda la comunidad catalana, principalmente de la mitad norte, de la provincia de Gerona. Se trata de un producto que podría también ser clasificado en la categoría de graso a extragrasso. Se elabora empleando un procedimiento de coagulación mixta, obteniéndose finalmente un queso de pasta blanda con la corteza enmohecida de color azul grisáceo y con un gusto suave y agradable, ligeramente ácido. Su forma es cilíndrica con bordes redondeados y un peso de aproximadamente 1Kg.

La leche una vez pasteurizada y enfriada a 35°C a la que se adiciona un cultivo láctico, se coagula tras la adición de cuajo en unos 45-60 min. El desuerado se lleva a cabo tras cortar la cuajada hasta tamaño de avellana. Después de moldeado se prensa ligeramente y salazona por inmersión en salmuera a 10°C durante un espacio corto de tiempo por lo que adquiere un sabor ligeramente salado. Se orea en cimares con una HR del 70% formándose una corteza muy ligera y posteriormente se madura aumentando la HR al 85-90%. El queso se coloniza externamente por microorganismos muy diversos que le dan el color y el aspecto característico de "pele florida". De este queso se ha realizado un estudio sobre la evolución de la flora y de algunos parámetros químicos y físico-químicos (Beltrán y col., 1993).

El queso de Málaga se fabrica fundamentalmente en la Serranía de Ronda y en los montes de Málaga. Se trata de un queso de coagulación enzimática y de pasta compacta pero blanda, de graso a extragrasso.

El queso de La Vera (provincia de Cáceres) se consume tierno pero también semicurado. Es de coagulación enzimática y de pasta compactada y opcionalmente se conserva en aceite.

I.5.2.3. - Quesos tiernos de oveja

La Bureba (parte nororiental de Burgos), Cáceres y Torta del Casar (Cáceres).

Son todos ellos de coagulación enzimática, pero para la elaboración de este último, la Torta del Casar, se emplea cuajo vegetal. Son grasos o extragrasos y tienen la pasta blanda aunque compacta, excepto el de La Bureba que es de pasta prensada.

I.5.2.4. - Quesos tiernos de mezcla

Beyos (Asturias en la parte occidental de los Picos de Europa), Flor de Guía (en el Noroeste de Gran Canaria), Quesuco (Cantabria) y Servilleta (Valencia).

El queso de Los Beyos en algunas ocasiones no viene descrito como un queso elaborado con leche de mezcla. Procede de los concejos de Ponga y Amieva. Se elabora con leche pasteurizada. Posee denominación de origen desde 1991. Es de coagulación predominantemente láctica, dejándose en reposo unas 20 h tras la adición del cuajo. Después se moldea y se sala en días sucesivos en ambas caras espolvoreando sal y se ahuma ligeramente. Se madura en sitios sombríos y airados. Es de forma cilíndrica, con unos 8 cm de altura por 11 de diámetro y se presenta en piezas de 300 a 600g. Es un queso de pasta dura o semidura, de graso a extragrasso (con 59,8 % de grasa sobre el ES) (Moro y col., 1992 a). Su color es blanco amarillento y de sabor fuerte.

El Flor de Guía es por el contrario de coagulación enzimática. Se fabrica en la región de Santa María de Guía al noroeste de Gran Canaria. Datos sobre este queso han sido publicados en el MAPA (1990) Y la Consejería de Agricultura y Pesca del Gobierno de Canarias (1984).

Su composición química y parámetros físico-químicos han sido estudiados por Fernández-Salguero y col., (1991).

La leche se cuaja con un extracto de cardo (*Cynara Cardunculus*), que crece espontáneamente en la región. Es un queso muy aplanado, liso y amarillento, de pasta prensada que resulta compacta y amarillenta. Se salazona

por ambas caras con sal gruesa y se consume tras aproximadamente 15 días de maduración.

El denominado **Quesuco**, se elabora con una mezcla de leche entera de vaca, oveja y cabra en la comarca de Liébana y en el Municipio de Peñarrubia en la Comunidad autónoma de Cantabria. Es de coagulación enzimática y de pasta firme y compacta, con posibilidad de tener la corteza enmohecida. Presenta forma cilíndrica o discoidal. Es de pequeño formato, oscilando entre los 8 y 12 cm de diámetro y 3 a 10 cm de altura, con un peso a la venta de 200 a 500 g. De color ligeramente amarillento, presenta algunos agujeros distribuidos irregularmente y, en ocasiones, sufre un ligero ahumado. Se consume en un periodo de aproximadamente 2 meses. El proceso de ahumado es el que permitía diferenciar la denominación genérica de Liébana entre la variedad “quesucos” y el “Ahumado de Aliva”. Su sabor es suave, con fondo láctico y cierto amargor, bien compensado por su contenido en materia grasa lo que determina su consistencia untuosa característica. El ahumado de Aliva tiene la peculiaridad de poseer una corteza de aspecto rugoso y de color marrón parduzco que le confiere el tratamiento de ahumado con madera de enebro. La masa interna es compacta y de color blanco que contrasta fuertemente con el color de la corteza. En un reciente estudio realizado por Urdiales, (1998) sobre la tecnología de elaboración y las características bioquímicas de este queso se obtuvieron los siguientes resultados:

Para su fabricación se parte de leche entera de vaca o mezcla de las tres especies, que se pasteriza siempre que el periodo de maduración sea inferior a dos meses; se añaden fermentos lácticos y 25 mL de cuajo animal de fuerza 1/10000 por cada 100 L de leche. A continuación, se corta la cuajada hasta conseguir granos del tamaño de garbanzo o avellana. Tras el desuerado permanece en moldes durante 24 h. Salazonando ambas caras con sal seca, en una proporción del 2-3%. Una vez retirados de los moldes, los quesos se transfieren a un local fresco y ventilado, con HR del 85-90% y temperatura inferior a 12°C, donde se maduran durante uno o dos meses.

Su composición global media resultó ser la siguiente: Humedad:40,7±4,40; proteína sobre ES: 40,18±3,49; grasa:54,99±3,79; cenizas: 6,33±1,41; lactosa:

0,89±0,33; ácido D-láctico:0,56±0,45; ácido L-láctico: 1,37±0,78; pH: 5,45±0,12; acidez titulable:1,78±0,27.

La proteólisis es escasa (NS: 21,06±7,73; El NNP representó un 10% del NT El N amínico un 2,6% y el amoniaco en torno al 1%). La lipólisis tampoco es muy importante en este tipo de queso, representando el índice de acidez de la grasa un valor de 3,99±2,82 mmoles de KOH/100 g de queso.

El queso Servilleta se elabora algunas veces con leche de oveja o de cabra. Es de pasta prensada, no cocida y se consume también en fresco.

I.5.3.- Quesos semicurados y curados

I.5.3.1.- De vaca

De Benasque (extremo nororiental de la provincia de Huesca), Casín (Asturias, cuenca alta del río Nalón), Mahón (isla de Menorca), SAN SIMÓN (Galicia) y Valle de Arán en la zona noroccidental de la provincia de Lérida.

El queso De Benasque, de coagulación enzimática y de pasta prensada no cocida. De graso a extragraso. De forma cilíndrica y con un peso de 1,5 Kg. La corteza es dura y de color amarillo intenso y el interior compacto y cerrado con agujeros de origen mecánico y de color amarillo. Para su elaboración se parte de leche cruda y entera de vaca que se coagula a una temperatura de 35°C durante 40 minutos. Pasado este tiempo la cuajada se corta intensamente y se recalienta a 38°C. Se moldea y se prensa durante 24h. Se salazona con salmuera y se madura en locales bien ventilados con HR en torno al 7% durante al menos dos meses.

Los únicos datos que existen sobre su composición son los que aporta el Catálogo de quesos de 1990 (MAPA, 1990).

El Casín, de pasta dura se elabora por un procedimiento bastante peculiar. Se utiliza leche procedente de la raza bovina autóctona de la montaña, que se conoce como "casina" por ser originaria de este concejo y que proporciona una gran riqueza en grasa. La temperatura a la que se efectúa la coagulación es alta, en torno a 37°C, formándose enseguida la cuajada, que se coloca en paños durante varios días hasta que no suelta más suero. Después se amasa

manualmente, añadiendo la sal y tras un intenso amasado se modela en piezas de forma cúbica o piramidal truncada, de aproximadamente medio Kg de peso. Estas piezas, llamadas “gorollos”, palabra bable con la que se designa un bulto informe, se dejan madurar provisionalmente durante una semana en un paño. Pasado este tiempo se parten en trozos y se vuelven a amasar volviendo a hacer nuevos gorollos. Esta operación se suele repetir de 3 a 5 veces, con el fin de lograr un queso más fino y homogéneo y con un sabor más pleno. Una vez dado por finalizado este proceso de amasado, se modelan cuidadosamente dándoles forma esférica con la mano, consiguiendo finalmente piezas circulares aplastadas de unos 15 cm de diámetro y 4-5 cm de altura. El periodo de maduración final dura de uno a dos meses más.

De este queso se ha estudiado solamente la composición química global (Moro y col., 1992 a). Tiene un contenido graso del 50% (sobre ES) y del orden del 36% de proteína. Es de color amarillo cremoso oscuro. No tiene corteza, ya que la maduración tras los sucesivos amasados es uniforme. La masa tiene una consistencia plástica y no tiene ojos y el sabor es fuerte y picante.

El queso Mahón se elabora en la isla de Menorca, es un queso de pasta prensada con forma de paralelepípedo de caras y aristas redondeadas, con una altura entre 5 y 9 cm y un peso que oscila entre 1 y 4 Kg, aunque excepcionalmente pueden admitirse piezas mayores. La corteza es grasienta y de color variable, entre el amarillo y el pardo amarillento; la textura de la pasta es firme y el color amarillo. El sabor es ligeramente ácido y algo salado. Es el primer queso de vaca que fue protegido por una denominación de origen, habiéndosele concedido en el año 1985. En este año (Carballo y col., 1997) se encontraban incluidas en el Consejo Regulador 46 queserías artesanas y 8 industriales que comercializaron más de 1.500 Tm de queso. Sin embargo, es bastante poco conocido en la península ya que prácticamente todo el volumen fabricado es utilizado para la elaboración de queso fundido. Para su elaboración se parte de leche cruda o pasteurizada procedente de vacas de raza Pardo Alpina, Frisona o Roja Menorquina que se coagula a 30-34°C utilizando cuajo animal en un tiempo que oscila entre 30 y 40 minutos. La cuajada se corta hasta tamaño de guisante y tras el desuerado se moldea para luego ser sometida a presión. Posteriormente

se salazonan en salmuera saturada, madurándose a continuación a temperaturas de 12 a 15°C y HR del 85% durante tiempos de maduración variables, generalmente superiores a dos meses. Se ha estudiado la composición global (Ramos y col., 1982; Alcalá y col., 1982; López Fandiño y col., 1984; Marcos y col., 1985; Frau y col., 1997 a), diversos aspectos relacionados con la proteólisis (Polo y col., 1985; Addeo y col., 1995; Frau y col., 1997 b; García Palmer y col., 1997), ácidos grasos libres (de la Fuente y col., 1993), compuestos volátiles (Bosset y Gaugh, 1993), a_w (Marcos y col., 1983a), evolución de la flora microbiana (Ramos y col., 1982) y grupos microbianos en particular (Suárez e Iñigo, 1982; Suárez y col., 1983; Suárez y col., 1984).

El del Valle de Arán es un queso también de coagulación enzimática y de pasta compacta, ligeramente ahumado. Su forma es cilíndrica irregular, con los bordes redondeados y con un peso que varía entre 1 y 2 Kg. Su interior es elástico y de color amarillento. La corteza es rugosa y el sabor es franco y algo ácido. Se elabora con leche cruda que se coagula a 30-35°C durante 1 h. Tras el corte y desuerado se introduce la cuajada en los moldes y se salazona con sal seca madurando posteriormente en ambientes bien ventilados durante 1-2 meses. Periódicamente se lavan con una mezcla de vinagre, ron y coñac. Los únicos datos disponibles se refieren a su contenido en sólidos totales, grasa, cloruro sódico y pH (MAPA, 1990).

El queso San Simón, que ha sido objeto de este trabajo se describirá con mayor extensión en el Apartado II.2.1 y II.2.2. Este queso se ha estudiado previamente en algunos aspectos, como por ejemplo, composición de la leche utilizada para su fabricación, la tecnología de la elaboración artesanal (Fernández Martínez y col., 1990 b), alguna característica química y algunos parámetros fisicoquímicos (Marcos y col. 1983 b; Marcos y col., 1985).

I.5.3.2.- De cabra

Acehuche (parte occidental de la provincia de Cáceres), Albarracín (Teruel), Alhama de Granada (sierras de Granada), Aracena (serranía de Huelva), Buelles (Asturias, zona limítrofe con Cantabria), Conejero (isla de Lanzarote), Gata-Hurdes (noroeste de la provincia de Cáceres), Ibores (zona nororiental de la

provincia de Cáceres), Majorero (Canarias, isla de Fuerteventura), Montsec (comarca de La Noguera, Lérida), De Murcia al vino (toda la comunidad autónoma de Murcia), Palmero (Canarias), Quesaílla (Badajoz), Sierra Morena (Norte de Sevilla), Tiétar (en la provincia de Ávila, en la cabecera del valle del Tiétar) y Valdeteja (zona norte de la provincia de León).

La mayor parte de todos estos quesos de cabra, presentan características muy similares, son de coagulación enzimática, de pasta prensada no cocida y de grasos a extragrasos. Alguno de ellos tienen alguna singularidad, por ej., **El Palmero** se ahúma ligeramente. Su caracteriación química ha sido estudiada por Gómez y col., (1991).

El queso Acehuche se obtiene coagulando la leche muy lentamente, lo que da lugar a una cuajada blanda. La maduración tiene lugar en ambientes templados y con bastante humedad ambiental.

El denominado **Albarracín** es de coagulación enzimática y de pasta prensada con un alto contenido en grasa, muy superior al anterior.

El de **Aracena** sufre un proceso madurativo mucho más prolongado, comercializándose de semicurado a añejo. Es un queso extragrasso desarrollándose mohos en su corteza y, en ocasiones, se conserva en aceite de oliva, lo que le confiere un sabor muy peculiar. De este queso existen estudios relacionados con su tecnología de elaboración y con la flora microbiana, flora láctica y enterococos, así como levaduras (Garrido y col., 1991 a y b ; Garrido y col., 1993).

Los de Gata-Hurdes y el de Ibores, son de pasta blanda, compactos y grasos, presentándose este último de tres formas distintas, con la corteza natural, o bien pimentada o aceitada, con el fin de evitar la desecación y el desarrollo de mohos e insectos, lo que da una apariencia típica.

El Ibores es el queso de cabra extremeño de mayor importancia. Se produce en la zona de Ibores-Villuercas en la provincia de Cáceres. Este queso se elabora artesanalmente a partir de leche cruda de las razas autóctonas (serrana y Verata). Es comercializado en fresco o después de dos meses de maduración.

El producto es obtenido por coagulación de la leche, mediante cuajo comercial a temperatura de 25-30° C alrededor de una hora. El trociado y desuerado de la cuajada se efectúa mediante agitación manual, obteniéndose un grano irregular de tamaño mediano a grande muy húmedo. La cuajada se despizca manualmente y se moldea en piezas cilíndricas de aproximadamente 1 kg. El queso es desuerado y salado con sal seca en ambas caras.

Este queso ha sido ampliamente estudiado tanto sus características químicas como microbilógicas (Mas Mayoral, M. y col., 1991; Gonzáles-Cresco, J. Y M. Mas, 1993; M. Mas

El de Murcia al Vino, se obtiene mediante lavado de la pasta y madurándolo posteriormente con lavados externos de vino.

El del Tiétar o queso de Gredos, tiene características muy similares al Ibores.

El de Montsec es el único de coagulación láctica de este grupo, aunque también se fabrica procedimiento de coagulación mixta. Se trata de un queso de pasta blanda y enmohecido externamente sobre una corteza de ceniza. Puede ser clasificado como doble graso. Se madura por lo menos durante 60 días y su composición global es del 51% de ES y 31% de grasa. Se han publicado algunos trabajos sobre este queso en los que se ha estudiado su caracterización físico-química (Carretero y col., 1992), su calidad microbiológica (Mor-Mur y col., 1992), los cambios microbiológicos durante la maduración (Mor-Mur y col., 1994) y la evolución de las caseínas a lo largo del proceso madurativo (Carretero y col., 1992).

El queso de Valdeteja se elabora exclusivamente por técnicas artesanales en Valdeteja, zona situada en el norte de la provincia de León. Es un queso semiduro de forma cilíndrica, de aproximadamente 15 cm de diámetro y 6 cm de altura con pesos por pieza de 800 a 1200g. De coagulación enzimática se fabrica añadiendo 25 mL de cuajo animal de fuerza 1/10000 por 100 L de leche previamente calentada a 37°C. Una vez obtenido el coágulo (1h 30 min- 2h) se corta en trozos grandes y tras el desuerado se amasa al introducir la cuajada en los moldes y se prensa ligeramente. El salazonado es con sal gruesa y se maduran durante un mes a una temperatura entre 10 y 15°C y una HR del 70-

80%. La corteza es seca, lisa y amarillenta y la pasta es firme, blancoamarillenta y de sabor ligeramente picante. Carballo y col. (1994) estudiaron la composición química global, destacando el elevado contenido en extracto seco y grasa, con valores del 72,9% y 59,5%, respectivamente, y correspondientemente una a_w baja. Es un queso muy ácido con valores de pH en torno a 4,3 y acidez titulable de 1,2 g de ácido láctico/100 g de queso. La lactosa desapareció a los 17 días de maduración. Sufre una proteólisis poco intensa con valores de NST en torno al 10% (Fresno, 1988; Carballo y col., 1994), corroborado también por las electroforesis de las caseínas y los aminoácidos libres. La lipólisis fue también muy escasa y entre los ácidos grasos libres de cadena corta resultó el ácido acético el más abundante, con valores comprendidos entre 715 y 1152 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de grasa. En cuanto a los elementos minerales, resultó el Na el más abundante (12,12 g/Kg ES), seguido del Ca (6,43 g/Kg ES) y del P (4,4 g/Kg ES) (Fresno y col., 1995).

También ha sido desarrollada una ecuación específica para el cálculo de la a_w en función del contenido en cenizas y cloruros (Rodríguez Tuero y col., 1989).

Los estudios microbiológicos llevados a cabo sobre este queso (Gutiérrez y col., 1988; Alonso Calleja, 1991), pusieron de manifiesto que a lo largo de todo el proceso madurativo predominaron las bacterias ácido lácticas, siendo las especies más abundantes *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus plantarum*.

1.5.3.3. - De oveja

Ansó-Hecho (parte noroccidental de la provincia de Huesca), Castellano (toda la comunidad de Castilla y León), Idiazábal (toda la comunidad autónoma vasca y zona norte de Pamplona), Manchego (toda la región natural de La Mancha), Oropesa (parte occidental de la provincia de Toledo), Pedroches (noroeste de la provincia de Córdoba), Roncal (zona nororiental de Navarra), La Serena (Badajoz), Serrat (en el Pirineo catalán) y Zamorano (fundamentalmente de la provincia de Zamora).

Las características generales de estos quesos es que son elaborados con leche entera de oveja, cruda o pasteurizada, exigiéndose para alguno de ellos la utilización de razas especiales, como por ej. de oveja manchega para el

Manchego, de merina para el de La Serena o de latxa o aragonesa para el Roncal. Se obtienen mediante un proceso de coagulación enzimática y son de pasta prensada no cocida, aunque en algunos casos se someten a una semicocción, como por ej. el de Ansó-Hecho, Idiazábal, el Roncal o el Serrat. El periodo de curación es muy variable, pudiendo venderse semicurados, curados o añejos y, en algunos casos, se sumergen en aceite de oliva para prolongar la maduración. Asimismo se trata de quesos que son grasos o extragrasos.

El queso Manchego es el más conocido fuera de nuestro país. Es originario de la región de La Mancha, pero se elaboran tipos similares en otras zonas como Zamora, Palencia, Valladolid, que no pueden recibir la denominación y se llaman “queso castellano”, “queso puro de oveja”, etc.

Tradicionalmente este queso se fabricaba con leche de oveja no pasteurizada, pero es sometido a un largo proceso de maduración, durante el cual los cambios bioquímicos ocurridos en la masa impiden la supervivencia de los gérmenes patógenos; sin embargo, cada vez es mayor la tendencia a la fabricación con leche pasteurizada a la que se añade un cultivo iniciador de *Lactococcus lactis* o *cremoris* y *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*. En algunos casos se añade también una preparación de lipasa comercial al objeto de obtener un producto con un sabor más fuerte.

A veces se efectúa un preensado para facilitar la expulsión del suero y debido a ello, los granos de cuajada coalescen por lo que hay que volver a cortar la masa en bloques que se apilan para acelerar la salida del suero. Se someten posteriormente a presión (1,5 Kg/cm²) aproximadamente 6 horas, pasadas las cuales se salazonan por inmersión en salmuera.

Las condiciones de maduración son realmente muy variables, pudiendo hacerse una maduración corta, de 2 a 3 meses, a temperaturas de 12-14°C y HR del 85-90% o bien hacerla más larga, del orden de 6 meses o superior por lo que se descende la temperatura hasta 8°C. Algunos fabricantes prefieren madurar el queso más tiempo, 10-12 meses trabajando a temperaturas más bajas (5°C). A veces, transcurrido el tercer mes de maduración se introducen los quesos en aceite de oliva, permaneciendo así hasta su venta. En otros casos, se aceita periódicamente la superficie o bien se parafinan para evitar pérdidas de peso.

Finalizada la maduración, se cepillan para eliminar los mohos superficiales y se parafinan o se hace un recubrimiento de otro tipo, para mejorar su presentación en el mercado.

La flora microbiana del queso manchego de leche cruda es muy peculiar (Núñez y Martínez-Moreno, 1976; Martínez Moreno y Núñez, 1976; Ordóñez y col., 1978 García y col., 1987). Los valores mínimos de pH (4,9-5) se alcanzan a las dos semanas, elevándose hasta 5,7 a los 3 meses; el contenido en humedad pasa del 55 al 65% en la cuajada al 35-45% en el queso de tres meses. Los componentes nitrogenados han sido estudiados por Marcos y col. (1976a) y Ordóñez y col. (1980). La acción proteolítica del cuajo y las proteasas microbianas se centra principalmente sobre la fracción α_s de la caseína que resulta muy degradada, lo que no sucede con la β caseína que sufre una proteólisis muy ligera con formación de péptidos de elevado peso molecular y baja movilidad electroforética (Marcos y col., 1976b). La lipólisis tiene lugar de forma lenta (Ramos y Martínez-Castro, 1976).

Existen también datos sobre otros quesos de este grupo. Fernández-Salguero (1975, 1978), estudió exhaustivamente el queso de los Pedroches y Fernández-Salguero y col., 1978 el de la Serena.

Asimismo, también han sido bastante estudiados otros quesos de este grupo, como el **Zamorano** (Marcos y col., 1985; Pomar y col., 1999 a y b), el **Castellano** (Marcos y col., 1985; Román Blanco y col., 1991; ; Román Blanco y col., 1995; Román Blanco y col., 1996), el **Roncal e Idiazábal** (Ordoñez y col., 1980; Oria, 1986) Oria y col., 1987; Fuente y col., 1993; Marti-de-Castro y col., 1994; Millan y col., 1996; Arizcun y col., 1996; Romano y col., 1996; Arizcun y col., 1997; Ibañez y col., 1998).

I.5.3.4 . - De mezcla

Ahumado de Aliva (comarcas cántabras de Liébana y Peñarrubia). La Calahorra (provincia de Navarra), Genestoso (zona occidental de Asturias), De La Gomera, (isla de la Gomera), Grazalema (sierra gaditana de Grazalema), Herreño (Canarias), Mallorquín (isla de Mallorca), Peñamellera (sierra del Cuera, Asturias),

Tronchón (entre Teruel y Castellón), Ibérico, Hispánico y De La Mesta (de distintas regiones).

Son todos ellos de leche de mezcla aunque las proporciones son variables y, a veces se utiliza leche de una sola especie, principalmente de cabra o oveja. Se elaboran mediante un proceso de coagulación mixta, aunque predominantemente enzimática, de pasta prensada no cocida. Alguno de ellos sufre un proceso de ahumado, como el de Aliva o el de La Gomera o el Herreño. El procedimiento de fabricación del **Ahumado de Aliva** es completamente similar al utilizado para los quesucos De Liébana como se ha descrito anteriormente, excepto en el tratamiento final de ahumado que se emplea para éste.

Pueden clasificarse la mayoría por su contenido en grasa como grasos o extragrasos, a excepción del de Calahorra, que es de semigraso a graso. Dos de ellos como el de Grazalema y el de Peñamellera tienen la peculiaridad de presentar la corteza enmohecida.

El queso Genestoso, llamado en bable “Xinestoso” es una variedad que fue adaptada en Asturias a partir de los quesos extremeños y manchegos, debido a los contactos estivales en las majadas con los pastores trashumantes.

Antiguamente se elaboraba con leche de oveja y cabra cuando podían ordeñarse. En la actualidad se utiliza leche cruda de vaca y se produce todo año. La coagulación es mixta y una vez formada la cuajada y desuerada se amasa manualmente con sal y se moldea en forma cilíndrica y estrecha por el centro. Posteriormente se deja curar durante tres semanas o hasta dos meses. Su composición resultó ser: Hmedad: 37,4 %; Extracto seco: 62,6 %; Grasa en ES: 54,3 %; Proteínas en ES: 39,0% (Moro y col., 1994).

El Peñamellera es un queso elaborado de forma artesanal o semiartesanal con leche pasteurizada de vaca, cabra o mezclas de vaca con oveja y/o caba. Son generalmente de forma cilíndrica, y no sobrepasa los 500g. Tiene maduración corta, del orden de una o pocas semanas, en lugar sombreado y fresco.

Presenta una composición con valores de : Humedad: 37,44%, ES: 62,56%, Grasa en ES: 52,7% y Proteinas en ES: 39,18% (Moro y col., 1992 b).

I.5.4. - Quesos azules

Cabrales (parte suroriental del Principado de Asturias), Gamonedo (parte noroccidental del macizo de los Picos de Europa, León, Asturias y Cantabria), La Peral (Asturias), Picón (Cantabria), Valdeón (zona norte de la provincia de León).

Son todos ellos quesos madurados de pasta blanda que experimentan en el interior el crecimiento de un moho, *Penicillium glaucum var. roqueforti*, cuyo micelio de color azulado confiere dicho color a la masa.

El Cabrales se elabora con leche de vaca o con mezcla de vaca, oveja y cabra. Se comercializa en unidades cilíndricas de unos 15 cm de alto por 30-35 cm de diámetro y un peso de 1 a 5 Kg de peso. Se trata de uno de los quesos más conocidos y de mayor proyección mundial. Se elabora en la zona de Cabrales, Bulnes, Tielve, Soltres y zonas limítrofes. Posee denominación de origen desde 1985. En su elaboración se utiliza leche cruda de vaca, oveja o cabra, o mezclas en proporciones variables. La leche se calienta hasta unos 35°C utilizando luego un procedimiento de coagulación mixta. El cuajo se añade en pequeña cantidad para que el cuajado sea lento. Además se añade un cultivo de *P. roqueforti* (100-200 mL por cada 1000 L de leche). Una vez realizado el desuerado la masa se introduce en los moldes sin otro prensado que el del propio peso de la cuajada. El salazonado se realiza con sal sólida extendiéndola con la mano y pasados unos días se invierte el queso y se sala por la otra cara. Luego se procede al picado, para introducir el moho en el interior de la pasta, mediante máquinas constituidas por planchas circulares provistas de múltiples agujas que se introducen en el queso abriendo una serie de canales que permiten que en el interior de la masa haya la tensión de oxígeno suficiente para el desarrollo del moho (Moro y col., 1992 a).

Ya picado, se deja madurar a una temperatura de 8-10°C y HR alta (90-95%), donde permanecen como mínimo dos meses, pero si se quiere un producto óptimo, se necesitan unos cuatro. Tras volteos periódicos se recubren de hojas de morera o del árbol *Acer pseudoplatanus* que parece ser que aportan microorganismos, mohos del género *Mucor*, principalmente que intervienen en la maduración junto con el *Penicillium* y la flora láctica de la leche. Al progresar la maduración, la masa se vuelve cada vez más cremosa y el olor es penetrante.

Es un queso que apenas tiene corteza, de pasta untuosa, de color blanco amarillento o gris, vetado de azul. Presenta un ES de 58% y 38,9% de proteína y 58,5% de grasa sobre ES (Moro y col., 1992 a).

El queso de Gamonedo se fabrica en la comarca asturiana de Cangas de Onís. Tiene algunas semejanzas de elaboración con el Cabrales. Tiene denominación de origen desde 1991. Se utiliza también leche de las tres especies ganaderas de la zona: vaca, oveja y cabra. Ahora bien, la cuajada se prensa ligeramente para obtener una masa más compacta que en el Cabrales. El desuerado es también rápido y forzado a fin de que la masa sea firme. Tras el salazonado, que se hace en seco, se ahúma durante aproximadamente 10 días y se introduce en cuevas donde permanece a temperaturas entre 12 y 15°C y HR en torno al 95%. Se mantiene madurando un mínimo de dos meses envuelto en hojas de helechos, que aportan microorganismos, no del todo conocidos, que están involucrados en el proceso madurativo.

El peso de las piezas oscila entre 2-7 Kg. La parte externa presenta una corteza natural, poblada de mohos que le confieren colores rojizos, verdosos y azulados.

El interior es compacto, blanquecino, con afloraciones verdosas de *Penicillium* cerca de los bordes. Es un queso friable, con un contenido en materia grasa entre el 35 y el 40% sobre ES (Moro y col., 1992 a).

El queso **Picón Bejes-Tresviso** es también de pasta blanda y de coagulación predominantemente enzimática. Para su elaboración se parte de leche cruda y entera de vaca o de mezcla de dos o tres especies, a la que se inocula una suspensión de esporas de *Penicillium roqueforti*. La coagulación se lleva a cabo a temperaturas de 22-28°C, añadiendo 25 mL de cuajo animal de fuerza 1/10000 por cada 100 L de leche; Después de hora y media la cuajada se corta hasta tamaño de avellana y se deja reposar 2 h, tras las cuales se pasa a los moldes en los que permanece 2 días a 22°C. Se salan por las dos caras y se transfieren a secaderos donde permanecen dos o tres semanas a 12°C y 80% de HR. Finalizado este periodo se trasladan a cuevas con ventilación natural por “soplado”, donde se produce la maduración propiamente dicha en condiciones de HR entre 85-95%, y baja temperatura (en torno a 5-10°C). Desde un punto de

vista organoléptico alcanza su óptimo de maduración en un periodo superior a dos meses, presentando en este momento una corteza de color anaranjado, como consecuencia del crecimiento en la superficie de mohos y levaduras. Su aspecto es untuoso y su olor muy penetrante. La pasta aunque blanda, se desgrana con facilidad al corte y está surcada prácticamente en su totalidad por galerías y cavidades llenas del moho. El sabor es fuerte y está bien desarrollado predominando la sensación de acidez láctica, acompañada de sabores y aromas típicos de los quesos azules. Se comercializa en piezas cilíndricas de 1 a 3 Kg de peso recubiertos de hojas de plátano (*Acer pseudoplatanus*) en los mercados locales (Urdiales, 1998). Esta autora también ha estudiado las características bioquímicas. Se trata de un queso que presenta un 57% de ES, un 39% de proteína /ES, un 56% de grasa, 10% de cenizas, cantidades vestigiales de ácido D-láctico y no posee ni lactosa ni ácido L-láctico al final de la maduración. Los valores de pH son de $6,87 \pm 0,54$ y la acidez titulable de $2,39 \pm 0,02$ g de ácido láctico /100 g de queso.

Tanto la proteólisis como la lipólisis son muy acentuadas alcanzando valores el NST del 70% sobre el NT. El NNP representa un 50%. El índice de acidez de la grasa alcanzó valores de 42,5 mmoles de KOH/100 g de grasa. Los quesos de **La Peral** y **Valdeón**, son de fabricación muy similar a los descritos. De este último se ha estudiado su composición global y sus características microbiológicas (López Díaz y col., 1994; López Díaz y col., 1995 a, b ; López Díaz y col., 1995b; López Díaz y col., 1996).

1.5.5. - Quesos especiales

Armada (Provincia de León), y Urbiés (zona centro de la comunidad autónoma de Asturias).

Crema de queso azul o de coagulación láctica, que se fabrican sobre todo en el N de España.

El queso de Armada se elabora exclusivamente por técnicas artesanales en las localidades de Primajas y Viego en la provincia de León. En el Catálogo de quesos de España (MAPA, 1990) y en alguna otra publicación aparece descrito como un queso elaborado con leche calostrada de vaca; sin embargo, actualmente

se hace con leche entera y cruda de cabra o bien mezcla de ésta con leche de vaca. Existen 3 variedades denominadas sobado, mortera y picón, pero el que goza de mayor popularidad es el sobado, que se obtiene exclusivamente con leche de cabra. Es un queso madurado de forma de prisma, oscilando su peso entre 1 y 1,5 Kg.

Para su elaboración se parte de leche cruda de cabra a la que se añaden 15 mL de cuajo de fuerza 1/10.000 por cada 100 L de leche a la temperatura de 30°C y una pequeña cantidad de suero de elaboraciones anteriores. Al cabo de aproximadamente 1 hora se corta la cuajada y se transfiere a sacos de lienzo que se cuelgan del techo y a los dos días se desmenuzan a mano y se vuelve a colgar. Se realiza al cabo de 2-3 días un sobado, en el transcurso del cual se salazona, moldeando luego a mano hasta que adquiere forma de un prisma rectangular.

El queso adquiere la consistencia adecuada dejándolo en un plato durante una semana. Luego se envuelve en un lienzo y se cuelga de nuevo hasta el final de la maduración, que tiene lugar a 10-15°C y 75-85% de HR, durante 3-4 meses, mostrando en este momento unas características muy específicas, determinadas fundamentalmente por un sabor fuerte y picante, pero muy aromático y graso.

Se han estudiado las características bioquímicas del proceso madurativo de este queso, (Fresno, 1994; Fresno y col., 1996; Fresno y col., 1997), así como la evolución de la flora microbiana (Tornadijo, 1996; Tornadijo y col., 1993, 1994, 1995 y 1996) obteniéndose las siguientes conclusiones:

Presenta un elevado contenido en extracto seco (78,85%), un 56,6% de grasa sobre ES y una baja a_w con un nivel alto de minerales, superior al que tienen otros quesos de cabra. La lactosa se degrada muy rápidamente, al cabo de 7 días de maduración en los que se llega a igualar la cantidad existente de las formas D y L del ácido láctico que presentaron al final de la maduración un 0,73% y un 0,79% sobre ES, respectivamente.

Sufre una escasa proteolisis debido probablemente a las condiciones de pH y S/H que presenta este queso, que están muy alejadas de las óptimas de actuación, tanto del cuajo como de las proteasas de los microorganismos. Valores de 9,68% de NS expresado como porcentaje de NT atestiguan este hecho.

El NNP al final de la maduración supone en torno al 75% del NT predominando el N amínico, aunque el contenido en aminoácidos libres es bajo (3,6 mg/Kg ES)., destacando la prolina, la leucina e isoleucina, el ácido glutámico, la fenilalanina, la histidina, la lisina y la valina.

La degradación lipídica resultó muy intensa al cabo del segundo mes de maduración y sólo comparable con la que presentan los quesos madurados por mohos. El contenido medio de ácidos grasos libres aumentó 20 veces en el transcurso de la maduración, resultando mayoritarios los ácidos saturados e insaturados de cadena larga, seguidos de los de cadena media, fundamentalmente el C₁₀. La proporción de ácidos grasos de cadena corta al final de la maduración resultó ser muy superior a la que presentan otras variedades de quesos con un grado de lipólisis muy elevada. En cuanto a los estudios microbiológicos, resultaron ser las bacterias acidolácticas los microorganismos más abundantes, los lactococos en las primeras etapas y los lactobacilos en las últimas. Además de la presencia de otros microorganismos, cabe destacar el hecho del aislamiento de mohos, predominando al final de la maduración mohos del género *Penicillium* (*P. roqueforti*, *P. crustosum* y *P. commune*), que parecen ser los principales responsables de la marcada lipólisis que ocurre en este queso.

El queso Urbiés es una rareza singular. Es una crema con un sabor potente e intensamente picante.

Es de coagulación láctica y muy lenta que permite ir retirando la nata de la superficie a medida que se va formando. El tiempo de coagulación es del orden de 3 días porque se trabaja con una temperatura en torno a los 20°C. Se cuelga la cuajada en bolsas para que escurra por completo y se amasa al cabo de unos días, salazonando posteriormente y dejando madurar durante un tiempo mínimo de 5 meses, en el transcurso de los cuales se amasa de nuevo la cuajada cada 10 ó 15 días. para evitar que se forme corteza y para que se introduzcan en la masa los microorganismos superficiales. Se vende en pequeños recipientes de barro porque al ser tan fuerte de sabor se consume en cantidades reducidas. Resulta bastante frecuente añadir en los últimos días de la maduración una pequeña proporción de aguardiente de caña, ron o whisky, ya que el alcohol neutraliza la acidez extrema del queso suavizando su sabor. La información

científica existente sobre esta variedad de queso se refiere únicamente a datos de composición química global (Moro y col., 1993 b).

I.6.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

Esta Tesis Doctoral se ha desarrollado en el marco del Convenio establecido entre la Universidad de León y la Universidad Luterana do Brasil (ULBRA) de Canoas (Rio Grande do Sul).

El trabajo que se presenta constituye una parte de un proyecto de investigación subvencionado por la Comisión de Investigación de Ciencia y Tecnología de España (CICYT) titulado: "Estudio microbiológico y bioquímico del proceso madurativo del queso de San Simón y elaboración de un cultivo iniciador propio para su producción a nivel industrial" y que ha sido desarrollado en coordinación con un grupo de investigación de la Universidad de Vigo, dirigido por el Prof. Dr. Carballo García, codirector de esta Tesis. Para su desarrollo se ha contado también con una Beca MUTIS de la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI).

El queso de San Simón da Costa, aunque se sigue produciendo de forma artesanal, cuenta con una producción industrial o semiindustrial importante. La elaboración industrial no se ha limitado en este caso a introducir normas higiénicas y técnicas comunes a la moderna industria quesera, sino que ha incorporado ciertas modificaciones con el fin de facilitar el proceso de elaboración aunque evidentemente se ha intentado respetar el sistema tradicional. Estos cambios van a provocar ciertas modificaciones en el producto final, que se traducirán, en muchas ocasiones, en una pérdida de calidad. Por otra parte, uno de los principales problemas de los quesos artesanales es que su calidad no resulta uniforme, pudiendo además en algunos casos ser potencialmente peligrosos para el consumidor, como ocurre con aquellos cuyo periodo de maduración es inferior a dos meses. Estos problemas pueden obviarse mediante la introducción de un proceso de pasterización de la leche destinada a la elaboración del queso y la adición de un cultivo iniciador adecuado. Sin embargo, para obtener un producto de calidad resulta muy conveniente conocer las características químicas y bioquímicas de los quesos, fabricados de modo artesanal e industrial, así como las microbiológicas, lo que nos permitirá sentar las bases científicas para la elaboración a gran escala de productos homogéneos que conserven las propiedades y peculiaridades de los productos tradicionales.

En concreto, esta investigación se ha centrado en la caracterización del queso de San Simón y en el estudio de los parámetros físico-químicos y los fenómenos glicolíticos, proteolíticos y lipolíticos que ocurren durante el proceso madurativo de este queso elaborado por procedimientos artesanales e industriales, con el fin de obtener datos que puedan contribuir a mejorar su calidad.

Por otra parte este estudio puede resultar de gran utilidad para la formación de un nuevo núcleo de investigación en la ULBRA, en el estado de Rio Grande do Sul (Brasil) donde se dispone de una producción alta de leche, aunque se elabora un número muy limitado de quesos, casi todos ellos de tipo fresco o semicurado, con un escaso control tecnológico.

II.- MATERIAL Y MÉTODOS

II.1.- MATERIAL GENERAL DE LABORATORIO

Para la determinación de la humedad y desecación de las muestras se utilizaron una estufa **Selecta mod. Digitronic** con fluctuación de $\pm 1^{\circ}\text{C}$ y una **Kowell mod. D1-I**, respectivamente.

Las pesadas ordinarias se hicieron en granatarios electrónicos **Ohaus 1500 D** y **Mettler PC 2000**, mientras que para las de precisión se utilizó una balanza digital **Precisa 125 A** y **Mettler Toledo AB204**.

La homogeneización de las muestras se realizó en un **Sorvall Omni Mixer** utilizando los vasos adecuados en cada caso.

Los agitadores magnéticos utilizados fueron **Agimatic N** de **Selecta** y los agitadores de tubos **Thermolyne mod. M-16710-12** de **Sybron Corporation**.

Las cenizas se determinaron en una mufla **Heterotec modelo 10-PR/300**. La concentración de las muestras se llevó a cabo en un rotavapor "R" de **Büchi**.

Los baños de agua utilizados fueron **Tectron 3473100** de **Selecta** con regulador de temperatura y agitación constante.

Las medidas de pH se llevaron a cabo en un pHmetro **PHM 82 Standard** equipado con un electrodo combinado.

Las centrifugaciones se llevaron a cabo en centrifugas **Heraeus Christ** con rotor **2143**, **Eppendorf 5414** y **Beckman mod. J2-21 Centrifuge**.

Las lecturas espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro **Kontron mod. Uvicon 810** de doble haz.

Los gases utilizados en la cromatografía gaseosa: aire puro, hidrógeno y nitrógeno y en la cromatografía líquida de alta eficacia (helio), fueron suministrados por la **Sociedad Española de Oxígeno (SEO)** y **Air Liquid**.

Las soluciones acuosas fueron preparadas con agua desionizada obtenida en un equipo **Milli Q Water System** de **Millipore**.

El material de vidrio utilizado fue de calidad **Pirex** o semejante.

Los reactivos empleados fueron suministrados por **Panreac**, **Merck**, **Scharlau**, **Bio-Rad**, **Sigma** y **Boehringer Mannheim** y en todos los casos fueron al menos de calidad reactivo para análisis.

II.2. - EL QUESO DE SAN SIMON DA COSTA

II.2.1. - Características generales

El queso de San Simón se elabora de forma artesanal e industrial en las parroquias de San Simón da Costa, Samarugo, Vilapedre y Lanzós, pertenecientes al municipio de Villalba (Lugo) y en las parroquias de Balsa y Viveiro, pertenecientes al municipio, también de Lugo, de Mura. La cantidad producida en 1996 se situó en torno a las 100 Tm, y en estos últimos años ha ido ascendiendo considerablemente, de tal forma que ya se ha duplicado la producción. Ello se debe en parte a la instalación de modernas unidades de elaboración que siguen técnicas similares a las del procedimiento tradicional, con alguna variación y utilizando leche pasteurizada. Podría resultar posible continuar fabricándolo con leche cruda, pero la maduración debería prolongarse hasta los límites legales establecidos.

El queso San Simón está acogido a la denominación de “Producto Galego de Calidade”, reconocida en la orden de 16 abril de 1991 de la Conselleria de Agricultura, Ganadería y Montes de la Xunta de Galicia” y actualmente está amparado por una D.O. provisional pasando a denominarse “San Simón da Costa” (Orden de 20 de abril de 1999 de la Conselleria de Agricultura, Gandería e Política Agroalimentar, publicada en el Diario Oficial de Galicia del 4/5/99).

Se trata de un queso madurado (durante 60 días como mínimo para los fabricados de modo artesanal) que se elabora a partir de leche de vaca y que sufren un proceso de ahumado que contribuye a conferirle su color y aroma característicos. Presenta una corteza de color ámbar o anaranjado, dura, tersa y brillante, con un leve aroma a leche recién ordeñada, pero con un sabor muy especial. La pasta es firme, cremosa, ligeramente ácida y no presenta ojos.

El catálogo de quesos de España (MAPA, 1990) lo describe como: “Queso madurado, de tierno a semicurado, elaborado con leche de vaca, de coagulación enzimática y de pasta prensada, no cocida. De graso a extragraso”.

Se presenta en el mercado en unidades troncocónicas cuya forma es similar a la de una peonza o una bala de cañón. Su peso oscila entre 800 y 1500g en el tipo tradicional, aunque también se elabora un queso de tamaño más pequeño al que se le da el nombre de “bufón”, que pesa entre 150 y 300g por unidad.

II.2.2. - Procedimiento de elaboración

Se parte de leche fresca, entera y natural de las razas Frisona, Parda Alpina, Rubia Gallega o sus cruces con una acidez de 16-17°D. En algunas queserías se parte de leche pasteurizada, pero, en líneas generales, el proceso de fabricación es similar. El proceso de elaboración artesanal mantiene pautas ancestrales, como el empleo de utensilios de madera de abedul, el pinchado de su interior que con agujeros que sirve para ayudar al desuerado o el ahumado como método de conservación. Posiblemente sea el queso gallego más arcaico que ha mantenido técnicas aportadas por los primeros pobladores de Galicia.

Una vez que la leche alcanza la temperatura de 33-35°C se añade cuajo en una proporción alta, del orden de 100mL/100 L de leche, con el fin de que el proceso de coagulación sea rápido, de manera que al cabo de una media hora se ha formado la cuajada, muy compacta y muy elástica y que se trabaja con gran facilidad. En las elaboraciones artesanales se añade también la sal a la vez que el cuajo, y en los industriales, en los que se utiliza leche pasteurizada, los correspondientes cultivos iniciadores.

Tras ser cortada en cubos de aproximadamente 1cm, se retira parte del suero y se vuelve a cortar hasta tamaño de granos de maíz, retirando, a continuación, el resto del suero. Una vez formadas las piezas en los moldes, en las elaboraciones artesanales se cierra la corteza con pequeños pedazos de cuajada y con agujas se pincha la base para que exude el suero interior con ayuda de presión para retirar las posibles bolsas que puedan quedar en el interior. Por último se lava la masa con agua caliente (en torno a 50°C) hasta que adquiere dureza y consistencia, tras lo cual se prensa ligeramente. En procedimiento industrial se prensa en la cuba y después se pasa para los moldes en los que permanece durante unas 3 horas. En el transcurso de este tiempo, se prensa, aumentando la presión aproximadamente 1kg cada hora. Para llevar a cabo el escaldado en la producción artesanal se utiliza agua a una temperatura de 90°C en la que se introducen los quesos un corto espacio de tiempo, tras el cual se retiran y se pican con una aguja larga, presionando para lograr un mejor desuerado. La secuencia de escaldado-picado se realiza alternativamente dos o tres veces. Alisando la superficie y tapando los agujeros formados en el picado. La impermeabilización que sufre la corteza

impediría la penetración de la sal en el caso de sustituir el sistema de salazonado ya que en los quesos fabricados de modo artesanal se realiza añadiendo sal a la leche antes de la coagulación. De todas formas podría resultar conveniente un cambio en el salazonado para reducir los cloruros en el suero y facilitar el proceso de coagulación. Sería posible, como apuntan Fernández y col., (1996) realizar el salazonado en masa al final del desuerado en cuba, lo que evitaría los problemas anteriormente señalados. Este problema ya ha sido evitado en los quesos fabricados industrialmente, ya que se efectúa por inmersión en salmuera durante unas 12 horas. El picado en las elaboraciones industriales se sustituye por un desuerado más intenso en la cuba o bien utilizando presión durante el moldeado. Seguidamente, se introducen en las cámaras de maduración en las que se mantienen durante unos dos meses, o bien un tiempo superior a éste, si la leche no había sido pasteurizada, a temperaturas en torno a 10-12°C y una humedad relativa del orden del 70-80%. Unos días antes de salir al mercado se ahuman con madera verde, empleándose generalmente abedul. En algunos casos se ahuman con otras materias vegetales, especialmente retama, que en gallego se denomina "xestas".

Un resumen de ambos procesos de fabricación aparece reflejado en la Fig.2.

II.2.3. - Características organolépticas

El Catálogo de Quesos españoles (MAPA,1990) describe las características del queso San Simón de la forma siguiente: "La corteza exterior es brillante, lisa, cerosa y de color parduzco o amarronado; en los más viejos puede estar salpicada de pequeñas zonas enmohecidas de color azulado. El interior es compacto, ciego o con ojitos repartidos por todo el corte, de color amarillo tenue a pajizo; la textura es corta, nada elástica y prieta. En el sabor predomina su característica ahumada, más o menos intensa pero nunca excesiva. Es ligeramente ácido, entre agrio y picante, con sabor desarrollado para su corta maduración, poco graso al paladar y nada salado".

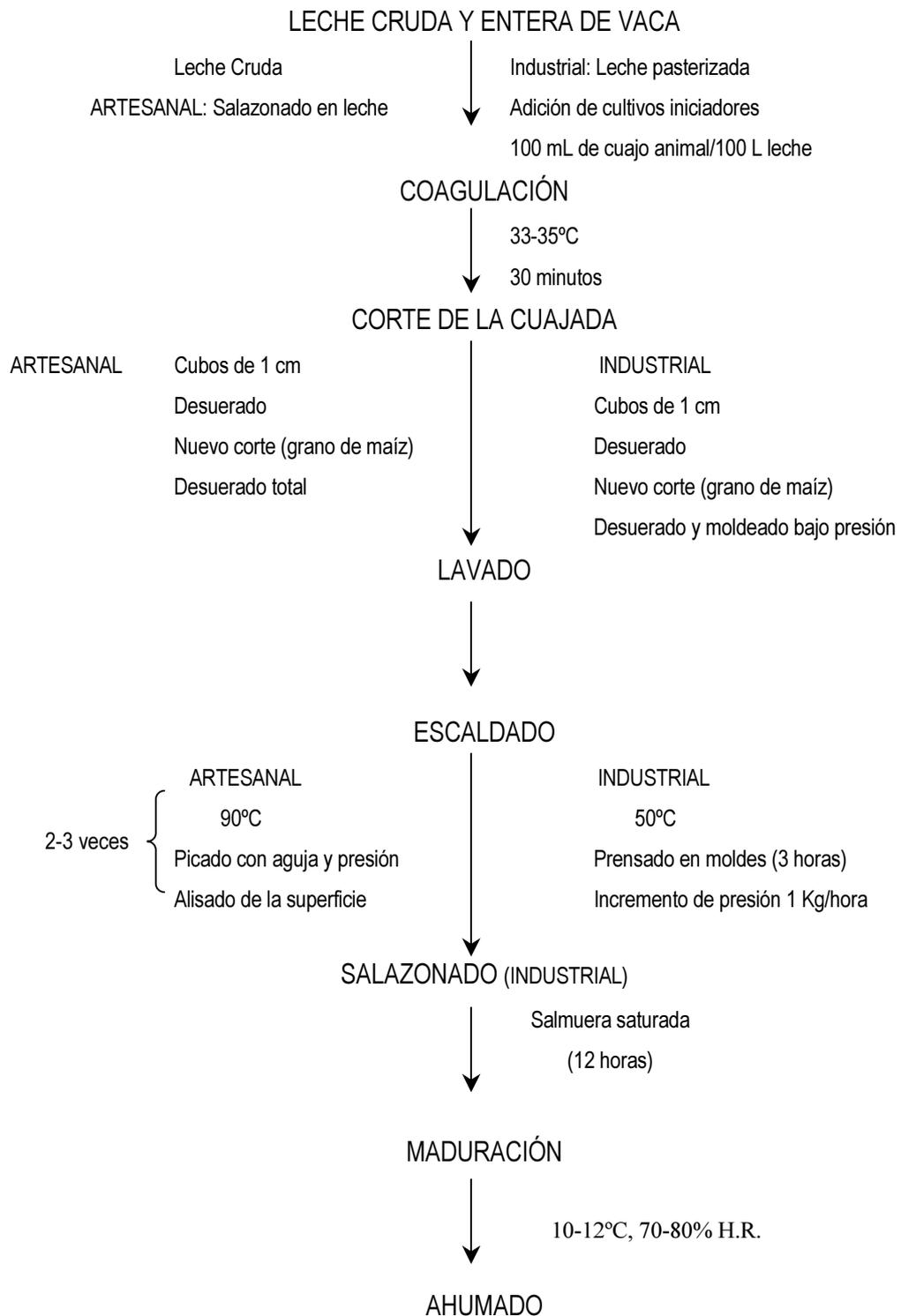


Figura 2 - Esquema de fabricación del queso de San Simón.

II.2.4. - Toma de muestras

Se utilizaran 6 lotes de quesos fueran fabricados en distintas queserías inscritas en el “Órgano Rector de Queixo San Simón”: “Daniberto” (muestra B₁); “Prestes” (B₂); “Angarrio” (B₃); “O’Catadoiro” (B₄); “Don Crisanto (B₅) y “As Fontelas” (B₆). Los quesos artesanales fueran fabricados por diferentes artesanos de la zona y son denominados como lotes A1, A2 y A3.

Para llevar a cabo el estudio de las modificaciones sufridas por los parámetros bioquímicos y fisicoquímicos en el transcurso de la maduración, se tomaron muestras, cada vez un queso entero, de las diferentes partidas a lo largo de la maduración: cuajada (0 días), y quesos a los 7, 15, 30, 45 y 60 días, que se mantuvieron en bodegas y/o cámaras de la zona hasta el momento de su recogida.

Las muestras se trasladaron al laboratorio, se descortezaron siguiendo las indicaciones de la Norma FIL-IDF 50 B (1985), se trituraron y se mantuvieron congeladas a –30°C hasta su análisis envasadas en recipientes herméticos.

II.3. - MÉTODOS ANALÍTICOS

II.3.1. - Parámetros composicionales

II.3.1.1.- Determinación de la humedad

Las determinaciones de humedad se realizaron por desecación en estufa de aire forzado caliente hasta peso constante siguiendo la Norma FIL-IDF 4 A 1982.

Procedimiento:

Se pesaron 20 g de arena de mar lavada con ácido en una cápsula de acero inoxidable, colocando a continuación en su interior una varilla de vidrio. El conjunto de la cápsula+arena+varilla se introdujo en una estufa donde se desecó durante 6 horas, trasladándose, a continuación, a un desecador donde se dejó enfriar a temperatura ambiente para su posterior pesada. Esta operación de desecación y enfriamiento se repitió hasta pesada constante.

Se depositaron en la cápsula alrededor de 3 g de queso, mezclándose cuidadosamente con la arena con la ayuda de la varilla de vidrio y se desecó de nuevo el conjunto a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 horas. Al cabo de este tiempo, se enfrió en el desecador y se pesó, repitiéndose estas operaciones hasta la obtención de peso constante.

El contenido en humedad se expresa como porcentaje en peso según la siguiente fórmula:

$$g \text{ H}_2\text{O}/100 g \text{ de queso} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

M₀ = Masa, en gramos, de la cápsula, varilla y arena.

M₁ = Masa, en gramos de la cápsula, varilla, arena y muestra antes de desecar.

M₂ = Masa, en gramos, de la cápsula, varilla, arena y muestra una vez desecada.

II.3.1.2. - Determinación de la proteína

Las determinaciones de la proteína se llevaron a cabo cuantificando el nitrógeno total por el método Kjeldahl en un equipo **Kjeltec System-1002 Distilling Unit** y una unidad de digestión **Digestion System-6-1007 Digester** de la marca **Tekator**, según la norma FIL-IDF 20B:1993 para el queso.

Reactivos:

- Acido sulfúrico concentrado (98%).
- Hidróxido sódico al 40% (p/v).
- Pastillas catalizadoras "**Special Kjeltabs S 3,5**" (3,5 g de sulfato potásico y 3,5 mg de selenio).
- Disolución de ácido bórico al 4% con verde de bromocresol y rojo de metilo como indicadores. Se preparó disolviendo 40 g de ácido bórico en aproximadamente 600 mL de agua destilada caliente. Una vez disuelto el citado compuesto, se añadió más agua destilada hasta un volumen de 900 mL. Tras enfriar a temperatura ambiente se añadieron 10 mL de una disolución de verde de bromocresol (100 mg en 100 mL de alcohol etílico) y 7 mL de otra de rojo de metilo (100 mg en 100 mL de alcohol etílico). Se llevó hasta un volumen final de 1 litro con agua destilada y se mezcló adecuadamente.
- Disolución valorada de ácido clorhídrico 0,1 N.

Procedimiento:

Se pesó en torno a 1 g de muestra con una precisión de ± 1 mg y se introdujo en un tubo de digestión, añadiendo seguidamente una pastilla catalizadora, perlas de vidrio y 12 mL de ácido sulfúrico concentrado. Los tubos se introdujeron en la unidad de digestión, a una temperatura de 420°C, hasta su total clarificación (unas 3 horas), transformándose el nitrógeno presente en la muestra en forma de sulfato amónico.

Una vez realizada la digestión, se liberó el amoníaco del sulfato amónico, mediante la alcalinización del medio con 50 mL de la disolución de hidróxido sódico al 40%. El amoníaco se arrastró por una corriente de vapor durante 7 minutos en la unidad de destilación y se recogió sobre 25 mL del reactivo de ácido bórico,

valorándose a continuación el borato amónico resultante por titulación con ácido clorhídrico 0,1 N hasta el viraje del indicador.

El porcentaje de nitrógeno total (NT) se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de NT/100 g queso} = \frac{14,01 \times (V - V_0) \times \text{Normalidad del ClH}}{g \text{ de muestra} \times 10}$$

V = mL de HCl 0,1 N gastados en la valoración de la muestra.

V₀ = mL de HCl 0,1 N gastados en la valoración del blanco.

El porcentaje de proteína viene dado por la expresión siguiente:

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno total} \times 6,38$$

II.3.1.3. - Determinación de la grasa

Las determinaciones de la grasa en los quesos se realizaron siguiendo el método gravimétrico de Schmid-Bondzynski-Ratzlaff según la Norma FIL-IDF 5 B 1986.

Reactivos:

- Disolución de ácido clorhídrico al 25% (p/v).
- Alcohol etílico al 96%.
- Eter etílico libre de peróxidos.
- Eter de petróleo 40-60°C.

Procedimiento:

Se tomó un matraz redondo de fondo plano de 250 mL de capacidad y se mantuvo durante 30 minutos en una estufa de desecación a 100±2°C, se enfrió en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesó con una aproximación de ±0,1 mg.

En un matraz Erlenmeyer de 50 mL se pesaron de 1 a 3 g de queso con una precisión de 0,1 mg y se añadieron de 8 a 10 mL de la disolución de ácido clorhídrico al 25%. La mezcla se llevó a un baño de agua hirviendo donde se mantuvo durante treinta minutos hasta la total digestión del queso. Seguidamente, se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron 10 mL de alcohol etílico, agitando

ligeramente y transfiriendo su contenido a embudos de decantación de 100 mL. Posteriormente, se añadieron 25 mL de éter etílico agitando vigorosamente durante un minuto y 25 mL de éter de petróleo, agitando suavemente durante 30 segundos. Se dejaron los embudos de decantación en reposo hasta que la capa líquida superior estuvo completamente clara y separada de la capa acuosa inferior. Se retiró la fase acuosa inferior y la fase superior, con la grasa, se trasladó a los matraces redondos que habían sido previamente pesados. El procedimiento de extracción se repitió 2 veces más, utilizando en estos casos solamente 15 mL de éter etílico y 15 mL de éter de petróleo cada vez.

Los disolventes se evaporaron en un rotavapor **R** de **Buchi** y los matraces se introdujeron en una estufa a $100\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante una hora. Al cabo de este tiempo, se enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesaron en una balanza, repitiéndose las operaciones de calentamiento y enfriamiento hasta alcanzar un peso constante.

El contenido en grasa de la muestra, expresado como porcentaje en peso, viene dado por la siguiente expresión:

$$g \text{ grasa}/100 g \text{ queso} = \frac{M_1 - M_2}{S} \times 100$$

M₁ = masa, en gramos, del matraz con la materia grasa extraída.

M₂ = masa, en gramos, del matraz sin grasa.

S = masa, en gramos, de la muestra de queso ensayada.

II.3.1.4. - Determinación de las cenizas

Las determinaciones de las cenizas en los quesos se realizaron mediante calcinación en mufla, según la Norma FIL-IDF 27 1964.

Procedimiento:

Las cápsulas de porcelana utilizadas se mantuvieron durante 30 minutos a $102\pm 2^{\circ}\text{C}$ en la mufla y, una vez enfriadas en un desecador, se procedió a pesarlas, repitiendo estas operaciones hasta pesada constante.

Se pesaron en las cápsulas entre 2 y 2,5 g de cada muestra de queso, trasladando el conjunto a un baño de arena donde se mantuvo hasta su carbonización. A continuación, se introdujo en una mufla, donde permaneció durante

seis horas a $525\pm 25^{\circ}\text{C}$ hasta su total incineración. Finalizado el tratamiento, se llevaron las cápsulas a un desecador donde se enfriaron a temperatura ambiente y se pesaron. La incineración se repitió mediante ciclos de 15 minutos hasta obtener una pesada constante.

El contenido en cenizas, expresado como porcentaje de peso, viene dado por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{M_1 - M_0}{P} \times 100$$

M_1 = Masa, en gramos, de la cápsula y las cenizas.

M_0 = Masa, en gramos, de la cápsula vacía.

P = Masa, en gramos, de la muestra de queso ensayada.

II.3.1.5. - Determinación de los cloruros

Las determinaciones de cloruros en los quesos se realizaron siguiendo el procedimiento descrito por Vohlard según la Norma de la AOAC 935.43 (1990).

Reactivos:

- Disolución de nitrato de plata 0,1 N.
- Acido nítrico al 60%.
- Disolución saturada de permanganato potásico.
- Disolución saturada de sulfato férrico-amónico.
- Disolución de tiocianato potásico 0,1 N.

Procedimiento:

En un matraz redondo de fondo plano de 250 mL, se pesaron $3\pm 0,1$ g de queso, añadiendo a continuación 25 mL de la disolución de nitrato de plata 0,1 N y 25 mL de ácido nítrico al 60%. Se mezcló todo ello mediante agitación y se introdujo en una camisa calefactora donde se calentó hasta ebullición, añadiendo a continuación y lentamente 15 mL de la disolución saturada de permanganato potásico, manteniendo la ebullición bajo un refrigerante de reflujo. Una vez decolorado el permanganato potásico, se retiró el matraz de la camisa calefactora y se añadieron 100 mL de agua destilada y 2 mL de la disolución saturada de sulfato férrico-amónico, mezclando el contenido adecuadamente. Finalmente, se valoró el

exceso de nitrato de plata con la disolución de tiocianato potásico 0,1 N hasta la aparición de un color marrón-rojizo persistente durante 30 segundos.

Se efectuó un ensayo en blanco, con agua destilada, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

El porcentaje de cloruros del queso se determinó utilizando la fórmula:

$$g \text{ NaCl}/100 g \text{ queso} = \frac{0,0058 \times (V_0 - V)}{P} \times 100$$

V_0 = mL de tiocianato potásico 0,1 N gastados en la valoración del blanco.

V = mL de tiocianato potásico 0,1 N gastados en la valoración de la muestra.

P = Masa, en gramos, de la muestra de queso ensayada.

II.3.1.6. - Determinación de los elementos minerales en queso

El contenido en elementos minerales en el queso se determinó según la técnica de Juárez y col. (1983), mediante espectrofotometría de emisión de plasma con previa incineración de las muestras y posterior disolución en ácido nítrico. Se utilizó un equipo Perkin Elmer mod. 1000 Emission Spectrometry (ICP-AES).

Reactivos:

- Acido nítrico concentrado.
- Acido nítrico 1 N.
- Disolución de escandio se preparó una disolución en ácido nítrico 1 N que contenía 1.000 ppm de escandio.
- Disoluciones estándar de los minerales

Se emplearon disoluciones estándar de Merck de todos los elementos a estudiar conteniendo cada una de ellas 1000 ppm en ácido nítrico 1N.

- Disoluciones patrón

A partir de cada una de las disoluciones estándar de cada mineral se prepararon disoluciones patrón, para realizar las curvas de calibración.

Para la determinación de Zn, Fe, Cu y Mn se utilizó la disolución madre de partida y para los demás elementos (Ca, Na, K, P y Mg) fue necesario realizar una dilución 1:100. A todas las muestras, patrones y blancos se les añadieron 50 ppm de la disolución de escandio, como señal de compensación Myers-Tracy.

Procedimiento:

Se pesaron 5 g de queso y se desecaron convenientemente en un baño de arena caliente a 100° C. Posteriormente, se llevaron las muestras a una mufla donde se incineraron a 460°C, subiendo la temperatura de modo gradual. Una vez obtenidas las cenizas se disolvieron en 1 mL de ácido nítrico concentrado, que se evaporó sobre una placa caliente. Se colocaron las cenizas de nuevo en la mufla a 460°C para su blanqueado y el residuo se disolvió en 10 mL de ácido nítrico 1 N.

Para la determinación de Zn, Fe, Cu y Mn se utilizó la disolución de 10 mL indicada anteriormente, mientras que para los demás minerales (Ca, Na, K, P y Mg) fue necesario hacer una dilución 1: 100. A todas las muestras, patrones y blancos se les añadieron 50 ppm de la disolución de escandio .

En cada caso se obtuvo un valor que era la media de 2 determinaciones.

II.3.1.7. - Determinación de la lactosa

Las determinaciones de lactosa en los quesos se realizaron siguiendo el método gravimétrico de Munson-Walker siguiendo la Norma FIL-IDF 43:1967.

Reactivos:

- Disolución de sulfato de zinc, obtenida disolviendo 30 g de sulfato de zinc 7-hidrato en agua destilada y completando hasta un volumen final de 100 mL.
- Disolución de ferrocianuro potásico preparada con 15 g de ferrocianuro potásico 3-hidrato en agua destilada y completando hasta 100 mL.
- Disolución de sulfato de cobre II constituida por 70 g de sulfato de cobre II 5-hidrato en agua destilada; completar a 1 litro, dejar reposar y filtrar.
- Disolución de tartrato alcalino preparada disolviendo 350 g de tartrato sódico-potásico 4-hidrato y 100 g de hidróxido sódico al 97% en agua destilada, completando a 1 litro. Dejar reposar durante 2 días y filtrar.
- Acido nítrico 15-20% (p/v).
- Alcohol etílico al 96%.

Procedimiento:

Se utilizaron crisoles filtrantes tratados con ácido nítrico y lavados exhaustivamente con agua destilada caliente y 10 mL de alcohol etílico. A

continuación, se secaron en una estufa a $100\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante treinta minutos y, una vez enfriados en el desecador, se pesaron con exactitud, con una precisión de 0,1 mg.

Se pesaron $10\pm 0,01$ g de muestra en un mortero al que se añadió agua destilada caliente ($60-70^{\circ}\text{C}$) para favorecer su trituración. El contenido se trasvasó a un matraz aforado de 500 mL y se llevó a un volumen aproximado de 400 mL con agua destilada. Se añadieron 5 mL de la disolución de sulfato de zinc y 5 mL de la disolución de ferrocianuro potásico, mezclándose adecuadamente después de cada una de las adiciones. El contenido del matraz se enfrió a temperatura ambiente y se enrasó a 500 mL con agua destilada. Una vez agitado su contenido, se filtró eliminando los primeros mililitros.

En un vaso de precipitados de 250 mL se colocaron 25 mL de la disolución de sulfato de cobre II y 25 mL de la disolución de tartrato alcalino. La mezcla se calentó hasta ebullición y se le añadió 100 mL del filtrado, cubriendo el vaso con un vidrio de reloj. El calentamiento se detuvo a los seis minutos de alcanzar de nuevo la ebullición y el contenido del vaso se filtró a vacío sobre un crisol filtrante. Finalizada la filtración, el crisol se enjuagó con agua caliente y 10 mL de alcohol etílico y se desecó durante treinta minutos en una estufa a $100\pm 2^{\circ}\text{C}$ para posteriormente, una vez frío pesarse con exactitud.

La diferencia entre la pesada del crisol, antes y después de la filtración, corresponde al óxido de cobre I formado y retenido en el mismo, el cual es proporcional a la lactosa presente. Los miligramos de óxido de cobre I son convertidos en gramos de lactosa anhidra, mediante tablas especiales, y el porcentaje de lactosa anhidra presente en la muestra de queso ensayada se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$g \text{ lactosa}/100 g \text{ queso} = \frac{50000 \times A}{V \times E} \times 0,99$$

A = Masa, en gramos, de lactosa anhidra representada en la tabla de equivalencia.

E = Masa, en gramos, de la muestra de queso ensayada.

V = Volumen, en mililitros, del filtrado utilizado.

0,99 = Factor de corrección para compensar el error volumétrico debido a la presencia en la muestra de grasa y proteína.

II.3.1.8. - Determinación de los ácidos D- y L-láctico

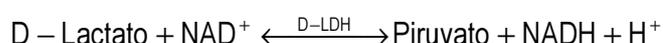
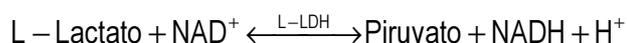
Las determinaciones de los ácidos D- y L-láctico en los diferentes muestras se realizaron siguiendo la técnica de Noll (1974) según el procedimiento espectrofotométrico descrito para productos alimenticios en Métodos de Bioanálisis de Alimentos de Boehringer Mannheim (1995).

Extracción de la muestra:

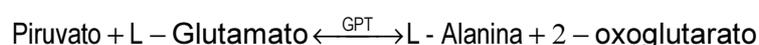
Se pesaron $1 \pm 0,1$ g de queso en un matraz aforado de 100 mL al que se añadieron 80 mL de agua destilada. Se introdujo en un baño de agua a 60°C en el que se mantuvo durante quince minutos, agitando periódicamente. Se enfrió a temperatura ambiente y se enrasó a 100 mL con agua destilada. Seguidamente, se trasladó el matraz a un baño de hielo durante 15 minutos para favorecer la separación de la grasa, tras lo cual se filtró la disolución, desechando los primeros mililitros.

Procedimiento de lectura:

El fundamento del método enzimático se basa en la oxidación de los ácidos L- y D-láctico, por el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), a piruvato, en presencia de las enzimas L-lactato deshidrogenasa (L-LDH) y D-lactato deshidrogenasa (D-LDH), respectivamente.



El equilibrio de ambas reacciones queda casi completamente desplazado hacia el lado del lactato. Sin embargo, por reacción del piruvato formado en una reacción subsiguiente catalizada por la enzima glutamato-piruvato transaminasa (GPT) y en presencia de L-glutamato, el equilibrio puede desplazarse en favor del piruvato y del NADH.



La cantidad de NADH formada, que se determina espectrofotométricamente a 340nm equivale a la concentración de los ácidos D y L-láctico. Se utilizó un espectrofotómetro **Kontron mod. Uvikon 810** y cubetas de paso de luz de 1cm.

Las determinaciones se realizaron tras la adición a la cubeta de:

- 1 mL de la solución tampón de glicilglicina (0,6 mol/l) y L-glutamato (0,1 mol/l), pH 10.
- 0,2 mL de una solución de NAD (47 mmol/l).
- 0,02 mL de la suspensión de GPT (20 mg/mL).
- 0,9 mL de agua bidestilada.
- 0,1 mL de la muestra obtenida como se describió anteriormente.

Se realizó la primera lectura (A_1) después de cinco minutos, añadiendo a continuación:

- 0,02 mL de una solución de D-LDH (5 mg/mL).

Al cabo de veinte minutos se realizó una segunda lectura (A_2) añadiendo seguidamente:

- 0,02 mL de la solución de L-LDH (10 mg/mL).

Transcurridos otros veinte minutos se realizó la tercera lectura (A_3).

Se llevó a cabo igualmente un ensayo de un blanco que contenía todos los reactivos anteriores, excepto la muestra.

Los resultados se expresaron en gramos de D- y L-láctico por 100 g de queso, teniendo en cuenta que el coeficiente de absorción del NADH a 340 nm es 6,3 [l.mmol⁻¹.cm⁻¹].

II.3.2. - PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

II.3.2.1. - Determinación del pH en el queso

Las determinaciones del pH en los quesos se llevaron a cabo siguiendo el método de la AOAC 14022 (1980).

Procedimiento:

Se pesaron 10±0,1 g de queso a los que se añadieron 100 mL de agua destilada, previamente hervida y enfriada hasta 45-50°C, homogeneizando

seguidamente en un Sorvall durante 3 minutos. Una vez filtrado el homogeneizado, se midió su pH a 20°C.

II.3.2.2. - Determinación de la acidez titulable en el queso

Las determinaciones de la acidez titulable en los quesos se realizaron siguiendo el procedimiento descrito por la AOAC 920.124 (1990).

Reactivos:

- Solución de hidróxido sódico 0,1 N.
- Solución de fenolftaleína al 2% (p/v) en alcohol etílico.

Procedimiento:

Se tomaron 50 mL del mismo filtrado utilizado para la medida del pH (apartado II.3.2.1) al que se añadieron 0,1 mL de una disolución de fenolftaleína al 2% en alcohol etílico, valorando a continuación con hidróxido sódico 0,1 N hasta la aparición de un color rosado persistente durante unos segundos.

La acidez titulable, expresada en términos de porcentaje de ácido láctico sobre extracto seco, viene determinada por la siguiente fórmula:

$$g \text{ de ácido láctico}/100 g \text{ queso} = \frac{90 \times V}{500}$$

V = mL de hidróxido sódico 0,1 N gastados en la valoración.

II.3.2.3. - Determinación de la actividad del agua

Las determinaciones de la actividad del agua en las diferentes muestras se realizaron utilizando un **AQUALAB** modelo **CX-2, Water Activity Measurement** de la marca **Decagon**.

Las muestras de queso se coloraron cubriendo el fondo de los pocillos que se introdujeron en la cámara de medida, una vez que su temperatura se equilibró con la temperatura ambiente, procediendo seguidamente a su lectura.

II.3.3. - PARÁMETROS PROTEOLÍTICOS

II.3.3.1. - Fracciones nitrogenadas

II.3.3.1.1. - Determinación del nitrógeno soluble total

El nitrógeno soluble total (NST) se determinó por el método de Johnson según describen Lichstein y Oginsky (1965), siguiendo el procedimiento de extracción de Vakaleris y Price (1959).

Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado en cada una de las muestras.

Reactivos:

- Reactivo de Nessler: se disolvieron 4 g de yoduro potásico y 4 g de yoduro de mercurio II en una pequeña cantidad de agua destilada. A continuación, se añadieron poco a poco y manteniendo en agitación, 100 mL de agua destilada y 100 mL de una disolución de 1,75 g de goma arábica en 100 mL de agua (preparada con agitación y ebullición constante).

La mezcla se llevó a un volumen de 1 L con agua destilada. El reactivo se almacenó en la oscuridad hasta su uso.

- Disolución de citrato sódico 0,5 M.
- Disolución de ácido clorhídrico 1,41 N.
- Disolución de hidróxido sódico 4 N.
- Acido sulfúrico 98%.
- Peróxido de hidrógeno (30 vol.).
- Sulfato amónico.

Procedimiento:

A 10 g de queso se añadieron 40 mL de la disolución de citrato sódico 0,5 M y 80 mL de agua destilada, homogeneizando la mezcla en un Sorvall **Omni-Mixer** durante tres minutos, transfiriéndola a continuación a un matraz aforado de 200 mL que se enrasó con agua destilada hasta su volumen final.

Se tomaron seguidamente 100 mL de la mezcla obtenida y se ajustó su pH a $4,40 \pm 0,05$ haciendo uso de la disolución de ácido clorhídrico 1,41 N. Finalmente, se llevó a un volumen de 125 mL con agua destilada.

Después de 30 minutos de reposo se filtró a través de papel **Whatman N° 3** y del filtrado se tomaron cuatro alícuotas de 0,1 mL que se desecaron en estufa a 100-110°C durante tres a cinco horas. Tras su desecación se realizó la digestión a la llama de un mechero previa adición de 0,2 mL de ácido sulfúrico concentrado. La digestión, que fue facilitada con unas gotas de peróxido de hidrógeno de 30 volúmenes, se dio por finalizada cuando el digerido estuvo transparente. Seguidamente se añadieron: 4,8 mL de agua destilada, 3 mL de la disolución de hidróxido sódico 4 N y 2 mL del reactivo de Nessler, se agitaron los tubos y se leyó la absorbancia a 490 nm frente a un blanco preparado con agua destilada.

La cantidad de nitrógeno se calculó refiriendo las lecturas espectrofotométricas a una gráfica patrón (Fig. 3) preparada con concentraciones conocidas de sulfato amónico.

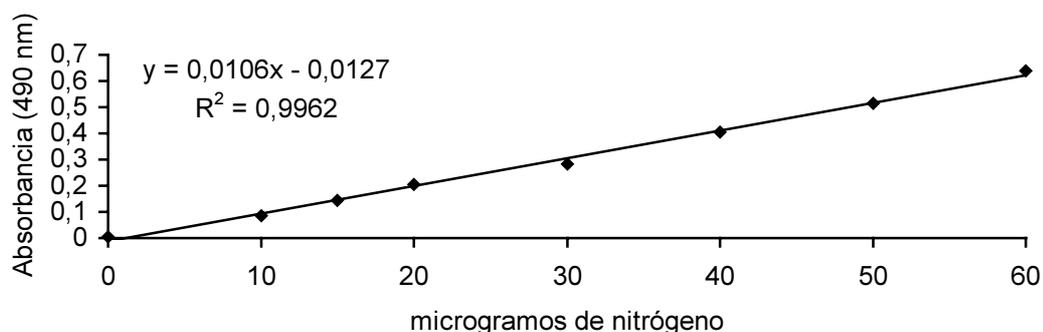


Figura 3 - Gráfica patrón para la determinación del nitrógeno por el método de Johnson (NST, NNP y N-NH₃).

II.3.3.1.2. - Determinación del nitrógeno no proteico

Las determinaciones de nitrógeno no proteico (NNP) se llevaron a cabo por el método de Johnson, tras precipitación de las caseínas con ácido tricloroacético al 12%. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado.

Reactivos:

- Los mismos que se describieron en el apartado II.3.3.1.1.
- Disolución de ácido tricloroacético al 60% (p/v).

Procedimiento:

A 16 mL del homogeneizado preparado para la determinación del nitrógeno soluble total se añadieron 4 mL de la disolución de ácido tricloroacético al 60%. Se dejó la mezcla 30 minutos en reposo y se eliminó el precipitado formado filtrando a través de un papel **Whatman N° 3**. Del filtrado se tomaron cuatro alícuotas de 0,1 ó 0,2 mL que se digirieron por el procedimiento anteriormente descrito, midiendo la absorbancia a 490 nm, tras la adición del agua destilada, la disolución de hidróxido sódico 4 N y el reactivo de Nessler. El contenido en nitrógeno no proteico se calculó al igual que el nitrógeno soluble total refiriendo las lecturas espectrofotométricas a la gráfica patrón (Fig. 3).

II.3.3.1.3. - Determinación del nitrógeno amoniacal

El nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se determinó, por cuadruplicado, tras la precipitación del resto de las otras fracciones nitrogenadas con ácido tricloroacético al 12% (p/v) siguiendo la técnica descrita por Ordóñez (1974).

Reactivos:

- Disolución de hidróxido sódico al 40% (p/v).
- Disolución de hidróxido sódico 4 N.
- Reactivo de Nessler.
- Disolución de ácido tricloroacético al 20% (p/v).
- Disolución de Sharp: se disolvieron en 55,7 mL de ácido acético glacial, 136,1g de acetato de sodio 3-hidrato, 48 g de cloruro sódico y 8,9 g de cloruro cálcico en agua destilada, ajustando su volumen final a 1L. Esta disolución se diluyó antes de su uso a 1/4 y se ajustó su pH a 5,5.

Procedimiento:

Se homogeneizaron 3 g de queso en 25 mL de la disolución de Sharp durante dos minutos. El homogeneizado se trasvasó a un matraz aforado de 200 mL y se mantuvo en un baño de agua a 50°C durante una hora. A continuación, se enfrió a temperatura ambiente y se enrasó el matraz con la disolución de Sharp.

La suspensión, una vez agitada convenientemente, se filtró y, seguidamente, se tomaron 20 mL del filtrado a los que se añadieron 30 mL de la disolución de ácido tricloroacético al 20%, dejando reposar la mezcla durante una noche a 0-5°C para favorecer la precipitación. Al día siguiente, se eliminó el precipitado por filtración en papel **Whatman N° 3** y el filtrado se neutralizó hasta un valor de pH de 6-6,5 con la disolución de hidróxido sódico al 40%.

Para la determinación del nitrógeno amoniacal se tomaron cuatro alícuotas de 4 mL del neutralizado a las que se añadieron 1 mL de agua destilada, 3 mL de la disolución de hidróxido sódico 4 N y 2 mL del reactivo de Nessler. Tras agitar correctamente la mezcla se leyó su absorbancia a 490 nm frente a un blanco, preparado con agua destilada.

Las lecturas espectrofotométricas se refirieron a la gráfica patrón utilizada para la determinación de nitrógeno soluble total y nitrógeno no proteico (Fig. 1).

II.3.3.1.4. - Determinación del nitrógeno amínico

Las determinaciones del nitrógeno amínico (N-NH₂) se efectuaron siguiendo el método descrito por Ordóñez (1974), midiendo la absorbancia a 570 nm del compuesto coloreado que se forma al reaccionar los grupos amino con la ninhidrina.

Reactivos:

- Reactivo de la ninhidrina: se disolvieron 20 g de ninhidrina y 3 g de hidridantina en 750 mL de etilén-glicol-monometil-éter. Una vez disueltos, se añadieron 250 mL de tampón acetato 4 N de pH 5,5. Este reactivo debe ser preparado inmediatamente antes de su uso y protegerse de la luz.
- Disolución de leucina 0,001 M para preparar la gráfica patrón.
- Disolución de n-propanol al 50% (v/v).

Procedimiento:

Se tomaron cuatro alícuotas de 0,5 mL del filtrado neutralizado preparado para la determinación del nitrógeno amoniacal, a los que se añadieron 1,5 mL del reactivo de la ninhidrina. Tras agitar convenientemente, se mantuvo la mezcla en un baño de agua hirviendo durante veinte minutos. Después del calentamiento, se enfrió rápidamente en un baño de agua fría y se añadieron 8 mL de la disolución de N-propanol al 50%, agitándose inmediatamente. La mezcla se dejó en reposo durante diez minutos para facilitar el desarrollo del color y se leyó su absorbancia a 570 nm frente a un blanco preparado con agua destilada. Las lecturas espectrofotométricas se refirieron a una gráfica patrón (Fig. 4) obtenida con diferentes concentraciones de leucina tratadas de la misma manera que las muestras.

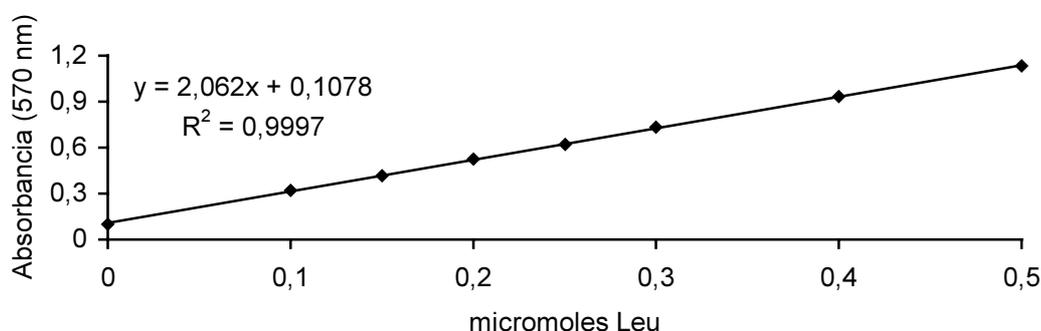


Figura 4 - Gráfica patrón para la determinación del nitrógeno amínico (N-NH₂).

II.3.3.1.5. - Determinación del nitrógeno proteico (NP), nitrógeno caseínico (NC), nitrógeno proteosa-peptona (Npp) y nitrógeno peptídico (Np)

Para la determinación de estas fracciones nos hemos basado en los datos obtenidos para cada una de las fracciones nitrogenadas mencionadas en apartados anteriores de acuerdo con Lenoir (1963). En la Fig. 5 se muestra el esquema que ha seguido.

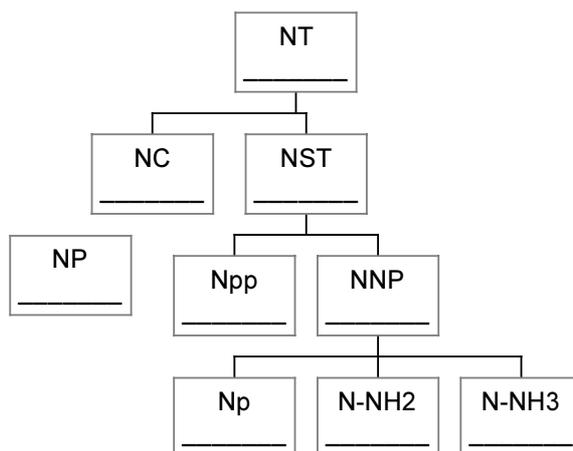


Figura 5 - Fraccionamiento de los componentes nitrogenados según Lenoir.

El nitrógeno proteico (NP) se determinó restando al nitrógeno total (NT) el nitrógeno no proteico (NPP).

El nitrógeno caseínico (NC) se determinó restando del nitrógeno total (NT) el nitrógeno soluble total (NST).

El nitrógeno proteosa-peptona se determinó restando al nitrógeno soluble total (NST) el nitrógeno no proteico (NPP).

El nitrógeno peptídico se determinó restando al nitrógeno no proteico (NPP) la suma del nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y el nitrógeno amínico (N-NH₂).

II.3.3.2. - Electroforesis de las caseínas y compuestos de degradación

La identificación de las diversas fracciones de caseína y de sus productos de degradación se llevó a cabo mediante electroforesis en geles de poliacrilamida-urea según el procedimiento descrito por Andrews (1983). Se utilizó una unidad **Protean II xi Cell** de Bio-Rad con placas de vidrio de 16 x 20 cm, con un diámetro interno de 1 a 15 mm. La cuantificación se llevó a cabo en un analizador de imagen PDI usando el software Diversity One 1.0TM. Los resultados se expresaron para cada una de las bandas como porcentaje de la densidad óptica total.

II.3.3.2.1. - Preparación de los tampones

- **Tampón del electrodo** (Tris-glicina, pH 8): se disolvieron 15 g de Tris y 72,91 g de glicina en 5 L de agua destilada.

- **Tampón del gel separador** (Tris-HCl, pH 8,9): se disolvieron 20 g de Tris, 130 g de urea y 2 mL de ácido clorhídrico concentrado en 500 mL de agua destilada.
- **Tampón del gel de carga** (Tris-HCl, pH 7,6): se disolvieron 1,875 g de Tris, 65 g de urea y 1 mL de ácido clorhídrico concentrado en 250 mL de agua destilada.
- **Tampón de la muestra** (Tris-HCl, pH 7,6): se disolvieron 0,75 g de Tris, 48 g de urea y 0,4 mL de ácido clorhídrico concentrado en 100 mL de agua destilada.

II.3.3.2.2. - Preparación de los geles

- **Gel separador:** se preparó disolviendo 12 g de acrilamida y 0,5 g de N, N'-metilénbisacrilamida en 100 mL del tampón de pH 8,9 (T = 12,5% y C= 4%). Se desgasificó durante 8-10 minutos e inmediatamente antes de su uso, se le añadieron 50 µl de N, N, N', N'- tetrametiletilendiamina (TEMED) y 2 mL de una disolución de persulfato amónico al 2%.
- **Gel de carga:** se disolvieron 2 g de acrilamida y 0,1 g de N, N, N', N'-metilénbisacrilamida en 50 mL del tampón del gel de carga de pH 7,6 (T 4,2% y C = 5%). Una vez desgasificado e inmediatamente antes de su uso, se añadieron 25 µl de TEMED y 1 mL de una disolución de persulfato amónico al 2%.

II.3.3.2.3. - Relleno de los geles

Las placas se rellenaban con el gel separador antes de añadir el gel de carga, que contenía los pocillos donde se depositaban las muestras para ser sometidos a la electroforesis.

II.3.3.2.4. - Preparación de las muestras

Para la preparación de las muestras se siguió el procedimiento descrito por Farkye y col., (1991).

Se tomaron cantidades variables de las muestras de queso, entre 0,12 y 0,2 g, dependiendo del contenido de NT del queso, hasta obtener una cantidad de 4 mg

NT/5 mL, con el fin de disponer de la misma cantidad de proteína en cada una de las muestras y se les añadieron 5 mL del tampón muestra de pH 7,6 junto con 0,2 mL de 2-mercaptoetanol. Se agitaron adecuadamente y se calentaron a 37°C durante una hora o a 40°C durante 45 minutos y se filtraron a través de lana de vidrio para eliminar la grasa presente. A 1 mL de esta disolución se le añadieron 2 gotas de una disolución de azul de bromofenol al 5% (p/v) que actúa como colorante de rastreo.

Del extracto anterior, se depositaron en cada uno de los pocillos un volumen de cada muestra con el fin de disponer en todos ellos de la misma cantidad de proteína (40,8 µg).

II.3.3.2.5. - Desarrollo electroforético

Inicialmente se aplicó durante 10 minutos una intensidad de 250 voltios para preequilibrar los geles. Después se introdujeron las muestras y se mantuvieron a 280 voltios durante aproximadamente 3 horas que duró el proceso. Durante todo el procedimiento, la cubeta de electroforesis estuvo conectada a un circuito de refrigeración para mantener una temperatura de 5-8°C.

II.3.3.2.6. - Tinción de los geles

Finalizado el desarrollo electroforético, los geles se introdujeron en una disolución acuosa de **Coomassie Brilliant Blue G-250** al 0,2% (p/v) acidificada con ácido sulfúrico hasta alcanzar una concentración 2 N. Se dejaron en reposo durante 3 horas en esta disolución, eliminándose posteriormente el precipitado por filtración a través de papel **Whatman N° 1**. El filtrado se mezcló en proporción 9:1 con una disolución 10N de hidróxido potásico y finalmente se añade ácido tricloroacético hasta el 12% (p/v).

II.3.3.2.7. - Cuantificación de las bandas proteicas

Una vez decolorados los geles por inmersión en agua destilada, se procedió a la identificación de las diversas fracciones de caseína y sus productos de degradación, refiriéndonos a un electroferograma de una caseína patrón de vaca, que se representa en la Fig. 6.

La cuantificación de las bandas electroforéticas se llevó cabo con un analizador de imagen **PDI The Discovery Series** usando el software **Diversity One 1.0™**.

Los resultados se expresaron para cada una de las bandas como porcentaje de la densidad óptica total .

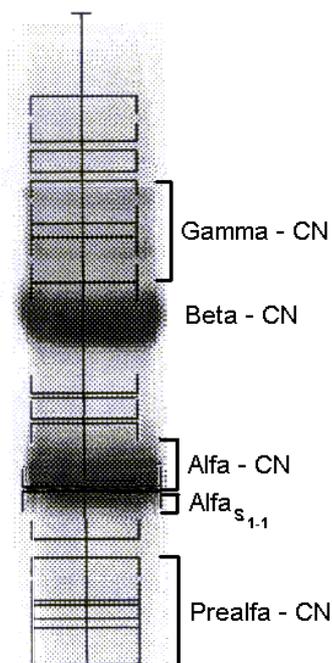


Figura 6 - Diagrama patrón de las caseínas de vaca mostrando las diversas fracciones.

II.3.3.3.- Determinación de los aminoácidos libres

La identificación y cuantificación de los aminoácidos libres por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) se realizó en un cromatógrafo de líquidos **Waters Alliance, 2690 Separations Module**, equipado con una bomba y un inyector automático, un horno calefactor **Waters Column Heater Module**, un detector **Photodiode Array** y un integrador **Chromatographic Data Management System: Millenium versión 2.15.01.**, siguiendo el procedimiento descrito por Alonso y col., (1994) con algunas modificaciones.

La separación de los distintos aminoácidos se llevó a cabo en una columna **Ultrasphere ODS 5μ** de **Beckman** de 4,6 mm de diámetro y 25 cm de longitud.

Reactivos:

- Disolución de ácido perclórico 0,6 N
- Disolución de hidróxido potásico 30% (p/v).
- Solución diluyente preparada con fosfato ácido disódico 5 mM, ajustando el pH a 7,4 con ácido fosfórico al 10% (p/v) y acetonitrilo, calidad HPLC, en proporción 19:1 (v/v).
- Solución derivatizante: Etanol, trietilamina, agua y fenilisotiocianato en proporción 7:1:1:1 (v/v).
- Metanol HPLC
- Fase móvil A: acetato sódico-ácido acético 0,23 M, pH 6,65 y acetonitrilo HPLC en proporción 94:6 (v/v).
- Fase móvil B: 60% acetonitrilo HPLC y 40% agua HPLC (v/v).

II.3.3.3.1 - Extracción de los aminoácidos libres

Se homogeneizaron 5 g de queso con 50 mL de la disolución de ácido perclórico 0,6 N durante 1 minuto en un Sorvall. La mezcla se centrifugó a 1790 g durante 20 minutos y el sobrenadante se filtró tras retirar la fracción lipídica de la parte superior a través de un papel **Whatman N° 54**. El filtrado se ajustó a pH 7,0 $\pm 0,2$ con la disolución de hidróxido potásico 30% (p/v) y se refrigeró (2°C) durante 10 minutos. Al cabo de este tiempo, los extractos obtenidos se filtraron para retirar las sales formadas, a través de filtros de **Millipore** de 0,45 μm de diámetro de poro, y se guardaron en un congelador a -30°C hasta su análisis.

II.3.3.3.2.- Derivatización de las muestras

Alícuotas de 0,15 a 1 mL de extractos obtenidos como se ha descrito anteriormente se desecaron bajo corriente de nitrógeno a 37°C. Una vez evaporadas las muestras, se añadieron 20 μL del agente derivatizante. Tras mezclarlo convenientemente con la muestra, se dejó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Al cabo de este tiempo, se evaporó con nitrógeno, se resuspendió la muestra en volúmenes de 800 μL de la solución diluyente y se centrifugó en una microcentrífuga **Eppendorf 5414** durante 5 minutos. Finalmente,

se procedió a la inyección de 20 µL de la muestra así preparada en el cromatógrafo con inyector automático.

II.3.3.3.3. - Preparación de los patrones

Se prepararon soluciones patrones (**Sigma**) de concentración 12,5 mM de tirosina y 25 mM del resto de los aminoácidos: ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), glutamina (Gln), serina (Ser), asparagina (Asn), glicina (Gly), histidina (His), taurina, ácido γ -aminobutírico (GABA), treonina (Thr), alanina (Ala), prolina (Pro), valina (Val), metionina (Met), cisteína (Cys), leucina (Leu), isoleucina (Ile), fenilalanina (Phe), triptófano (Trp) y lisina (Lys). Con estas soluciones se procedió de la misma manera que con las muestras de queso y se prepararon las curvas de calibración utilizando distintas concentraciones de cada aminoácido para la cuantificación de los mismos.

II.3.3.3.4. - Desarrollo cromatográfico

La temperatura de la columna se mantuvo a $50 \pm 1^\circ$ C durante el desarrollo cromatográfico, ajustándose la longitud de onda del detector a 254 nm.

Las condiciones cromatográficas seguidas (composición de la fase móvil a lo largo del tiempo y flujo) aparecen recogidas en la tabla I. Los cambios en el gradiente se realizaron linealmente.

Tabla I. – Desarrollo cromatográfico

Tiempo (minutos)	% Fase A	% Fase B	Flujo (mL/min)	Curva
0	100	0	0.9	-
5	100	0	0.8	8
20	78	22	0.75	6
40	54	46	0.80	6
42	0	100	1	6
43	0	100	1	6
44	100	0	1	6
46	100	0	1.5	6
47	100	0	0.9	6

II.3.4. - PARÁMETROS LIPOLÍTICOS

II.3.4.1. - Determinación del índice de acidez de la grasa

La determinación del índice de acidez de la grasa se llevó a cabo según la Norma FIL-IDF 6A 1969, previa extracción de la grasa con cloroformo.

Reactivos:

- Éter etílico.
- Triclorometano
- Alcohol etílico
- Sulfato sódico anhidro
- Disolución de hidróxido potásico 0,02 N en alcohol etílico.
- Disolución de fenolftaleína al 1% (p/v) en alcohol etílico.

Procedimiento:

Se homogeneizaron en un Sorvall 10 g de queso con 50 mL de triclorometano durante 2 minutos. El triturado se filtró en un embudo de decantación y, a continuación, se añadieron 10 mL de agua destilada, agitándose enérgicamente. Después de separadas las fases, se recogió la fase orgánica en un matraz que contenía 1 g de sulfato sódico anhidro. Posteriormente se filtró y se tomaron 10 mL a los que se añadieron 20 mL de la mezcla éter etílico/etanol (v/v) y fenolftaleína como indicador. Se procedió a la titulación con la disolución 0,02 N de hidróxido potásico en alcohol etílico, frente a un blanco, realizado de la misma manera pero utilizando agua en vez de materia grasa.

El índice de acidez de la grasa viene expresado por el número de mg de hidróxido potásico necesarios para neutralizar 1 g de materia grasa según la siguiente fórmula:

$$mg\ KOH/g\ grasa = \frac{(V - V_0) \times N \times 56,1}{A}$$

V = Volumen, en mL, de la disolución de hidróxido potásico 0,02 N gastados en la valoración de la muestra.

V₀ = Volumen, en mL, de KOH gastados en la titulación del blanco.

A = % de grasa de la muestra.

N = Normalidad de la solución de KOH.

II.3.4.2. - Determinación de los ácidos grasos libres (AGL)

La determinación de los ácidos grasos libres (AGL) se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta eficacia siguiendo en líneas generales el procedimiento descrito por García y col. (1990). Se utilizó un cromatógrafo de líquidos Waters Alliance 2690 Separations Module provisto de los elementos que se describen en el apartado II.3.3.3.

Reactivos:

- Éter dietílico.
- Sulfato sódico anhidro.
- Disolución de p-bromofenacilbromuro (2,4 – Dibromoacetofenona): 1g /L acetonitrilo.
- Disolución de 18-crown-6-éter (1,4,7,10,14,16-Hexaoxaciclo-octadecano): 5 g/L acetonitrilo.
- Carbonato potásico.
- Disolución de ácido fórmico: 40% (p/v) en acetonitrilo.
- Disolución cloroformo-metanol 1:1 (v/v).
- Fase móvil A: 95% agua y 5% acetonitrilo (v/v).
- Fase móvil B: 95% metanol y 5% acetonitrilo (v/v).

II.3.4.2.1. - Extracción de la materia grasa del queso

Se pesaron 3g de queso en un tubo de ensayo, se añadieron 10 mL de éter dietílico y entre 4 y 6 g de sulfato sódico anhidro, dependiendo de la humedad de la muestra y se agitaron durante 2 minutos en un agitador **Thermolyne mod. M-16710-12.** A continuación, las muestras se introdujeron durante 5 minutos en un baño de ultrasonidos **Bransonic 221**. Este proceso se repitió cada 15 minutos 5 veces.

II.3.4.2.2. - Derivatización de las muestras

A temperatura de refrigeración se tomaron alícuotas de 3 mL de los extractos de las muestras obtenidas como se ha descrito previamente y se pasaron a tubos de ensayo de cierre hermético que contenían 4 mL de la

disolución de p-bromofenacilbromuro, 80 μ L de la disolución de 18-crown-6-éter y 0,2g de carbonato potásico. Una vez cerrados los tubos y agitada la mezcla, se calentaron a 75-80°C durante 30 minutos en un baño termostatado. Transcurrido este tiempo, los tubos fueron enfriados a temperatura ambiente y se añadieron 40 μ L de la disolución de ácido fórmico. A continuación se cerraron de nuevo, se agitaron y se calentaron a 75-80°C durante 5 minutos. A partir de este momento, las muestras fueron mantenidas a refrigeración (2°C) al menos durante 1 hora y después fueron filtradas a través de filtros de nylon de 0,45 μ m. Las muestras así tratadas fueron colocadas en viales para su inyección automática en el cromatógrafo.

II.3.4.2.3. - Preparación de los patrones

En la disolución de cloroformo-metanol se prepararon soluciones 0,2 M de los siguientes ácidos grasos: butírico (C₄), caprónico (C₆), caprílico (C₈), cáprico (C₁₀), láurico (C₁₂), mirístico (C₁₄), palmítico (C₁₆), esteárico (C₁₈), oleico (C_{18:1}), linoleico (C_{18:2}) y linolénico (C_{18:3}). Con estas disoluciones se procedió de la misma manera que con las muestras de queso y se prepararon las curvas de calibración utilizando distintas concentraciones de cada ácido graso para la cuantificación de los mismos.

II.3.4.2.4. - Desarrollo cromatográfico

Las condiciones cromatográficas seguidas (composición de la fase móvil a lo largo del tiempo, flujo y tipo de gradiente) aparecen recogidas en la tabla II. La columna se mantuvo termostatada a 33 \pm 1°C y le longitud de onda del detector se ajustó a 254 nm.

Tabla II. – Condiciones cromatográficas para la determinación de ácidos grasos.

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	Composición fase móvil (%)		Tiempo	Tipo de curva
		Fase A	Fase B		
0	1.0	47.5	52.5	-	
13	1.0	11.5	88.5	13	6
18	1.0	11.5	88.5	5	4
20	1.0	0.0	100.0	2	6
29	1.0	0.0	100.0	9	6
30	1.0	47.5	52.5	1	6
45	1.0	47.5	52.5	15	6

II.3.5. - TRATAMIENTO ESTADISTICO

Para la comparación de los diferentes parámetros se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el test LSD para un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$) con el programa informático **STATISTICA[®] for Windows Release 5.1**” Statsoft, Inc., 1996 (Tulsa, OK, USA).

Se compararon los valores obtenidos entre los diferentes puntos de muestreo a lo largo de la maduración y en los quesos artesanales e industriales, respectivamente entre los dos grupos estudiados para el mismo punto de muestreo (al final del periodo maturativo).

III.- RESULTADOS

III.1. – CARACTERIZACIÓN DEL QUESO SAN SIMON DA COSTA

III.1.1. - Parámetros composicionales y físico-químicos del queso San Simón da Costa fabricado de modo artesanal

En la Tabla III y figura 7 se muestran los valores obtenidos en el estudio de la composición de los quesos al final del proceso madurativo (60 días). Los análisis se realizaron por duplicado sobre tres partidas de queso (A1, A2 y A3), que fueron elaboradas por diferentes artesanos cualificados de las zonas de producción empleando el procedimiento tradicional, como se describe en el apartado II.2.2.

Tabla III – Parámetros composicionales y físicoquímicos del queso San Simón fabricado de modo artesanal. *

	A1	A2	A3	V. medios±SD
Extracto seco	59,45	60,53	59,15	59,71±0,73
Proteína *	50,45	46,36	40,18	45,66±5,17
Grasa *	48,65	44,15	52,84	48,55±4,35
Lactosa *	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Ácido L-láctico *	2,12	2,40	1,57	2,03±0,42
Ácido D-láctico *	2,20	1,70	1,17	1,69±0,52
Cenizas *	5,45	5,75	5,17	5,46±0,29
Cloruro sódico *	1,07	1,08	1,10	1,08±0,02
PH	5,40	5,59	5,60	5,53±0,11
Acidez titulable **	2,40	2,18	1,96	2,18±0,22
Actividad del agua	0,973	0,956	0,964	0,960±0,01

* Valores expresados en porcentaje sobre ES.

** Expresada como g de ácido láctico/100 g de queso

N.D. – No detectada.

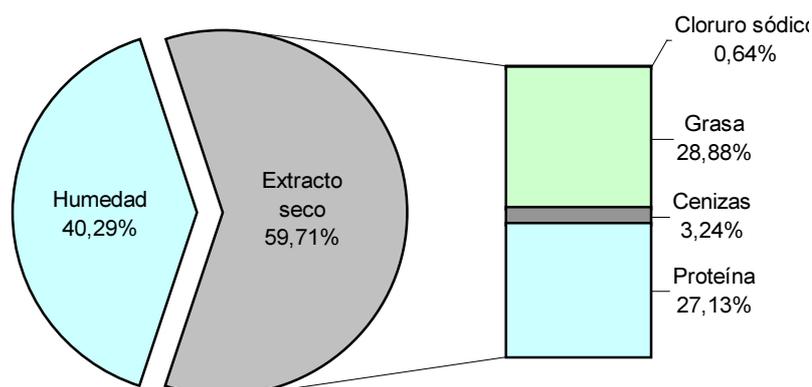


Figura 7 – Composición media del queso San Simón (% /100 g de queso) fabricado de modo artesanal.

Lo más destacable sobre la composición global de estos quesos es que presentan un alto contenido proteico ($45,66 \pm 5,17$ g de proteína/100 g ES). Que por su composición grasa ($48,55 \pm 4,35$), pueden ser clasificados según el Código Alimentario Español CAE, en el grupo de los extragrasos (contenido > 45%), que no tienen lactosa residual, y que el pH, que alcanza valores medios de $5,53 \pm 0,11$ presenta pocas fluctuaciones entre los diferentes lotes, así como la a_w , con valores finales de $0,960 \pm 0,01$.

III.1.2. - Parámetros composicionales y físico-químicos de los quesos fabricados de modo industrial

Estos quesos se fabricaron en diferentes industrias inscritas en el “Órgano Rector de Queixo San Simón”, como se describe en el apartado II.2.4.

En la Tabla IV y Figura 8 se muestran los valores obtenidos en el estudio de la composición de los quesos al final del proceso madurativo (60 días). Los análisis se realizaron por duplicado sobre seis partidas de queso (B1, B2, B3, B4, B5 y B6).

Tabla IV – Parámetros composicionales y físico-químicos del queso San Simón fabricado industrialmente.

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	Valores medios±SD
Extracto seco	64,24	58,15	61,53	61,68	62,23	63,55	61,90±2,12
Proteína *	38,00	38,59	41,61	36,88	39,67	45,39	40.02±3.08
Grasa *	49,98	51,93	51,45	55,69	56,86	48,59	53,80±3,03
Lactosa	N.D.						
Ác. L-láctico *	1,66	2,56	2,20	2,25	1,05	1,46	1,86±0,57
Ác. D-láctico *	1,35	0,23	0,98	1,03	0,58	1,41	0,93±0,45
Cenizas *	7.90	6,87	6,38	6,57	6,14	6,16	6,67±0,64
NaCl *	4,06	2,72	2,72	2,64	2,41	2,46	2,84±0,61
PH	5,55	5,67	5,70	5,60	5.99	5,99	5,71±0,15
Ac. titulable **	1,71	1,55	1,69	1,84	1,04	1,30	1,52±0,30
a _w	0,932	0,957	0,950	0,956	0,950	0,945	0,948±0,01

* Expresados sobre porcentaje de ES.

** Expresada como g de ácido láctico/100 g de queso

N.D. – No detectada.

Estos quesos fabricados en las industrias, son bastante similares a los artesanales en lo que respecta a su composición básica, no existiendo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el contenido en ES, proteína, grasa, lactosa y ácido L-láctico. El contenido en ácido D-láctico resultó más alto en los quesos artesanales. La cantidad de sal fue significativamente más alta en los quesos industriales y, consecuentemente, también fue superior la proporción de cenizas que presentaron. En cuanto a los parámetros físicoquímicos, estos quesos presentaron un valor de pH significativamente más alto, más baja la acidez titulable y aunque los valores de a_w fueron más bajos, las diferencias no resultaron significativas ($p < 0,05$).

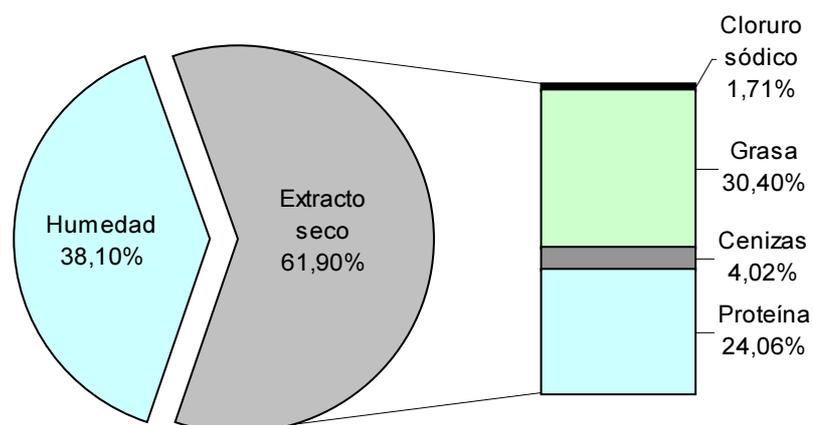


Figura 8 - Composición media del queso San Simón (% /100 g de queso) fabricado de modo industrial

III.1.3. – Composición mineral de los quesos artesanales

El contenido en los diferentes elementos minerales hallado para los quesos artesanales aparecen reflejados en la Tabla V y en las Figuras 9 y 10.

Tabla V. – Composición mineral del queso San Simón fabricado de modo artesanal.

	A1	A2	A3	V.medios ± S.D.
Na *	7,64	9,69	4,71	7,34±2,50
Ca *	17,12	23,85	13,77	18,24±5,13
K *	2,76	3,93	2,15	2,94±0,90
Mg *	0,67	0,96	0,52	0,71±0,22
P *	10,69	14,74	8,67	11,36±3,09
Ca/P	1,60	1,61	1,58	1,60±0,057
Fe **	2,28	3,20	3,26	2,91±0,54
Zn **	31,02	38,80	30,00	33,27±4,81
Cu **	0,39	0,55	0,36	0,43±0,10
Mn **	0,195	0,23	0,18	0,20±0,02

* Expresados como g/Kg de extracto seco.

** Expresados como mg/Kg de extracto seco.

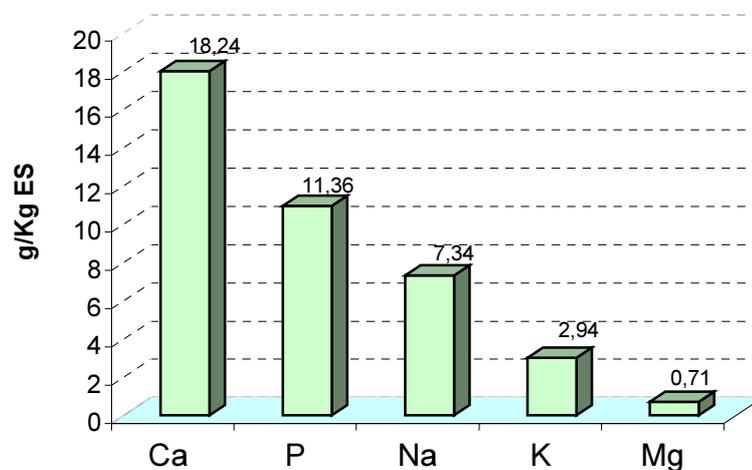


Figura 9 – Contenido en elementos minerales mayoritarios del queso San Simón fabricado de modo artesanal.

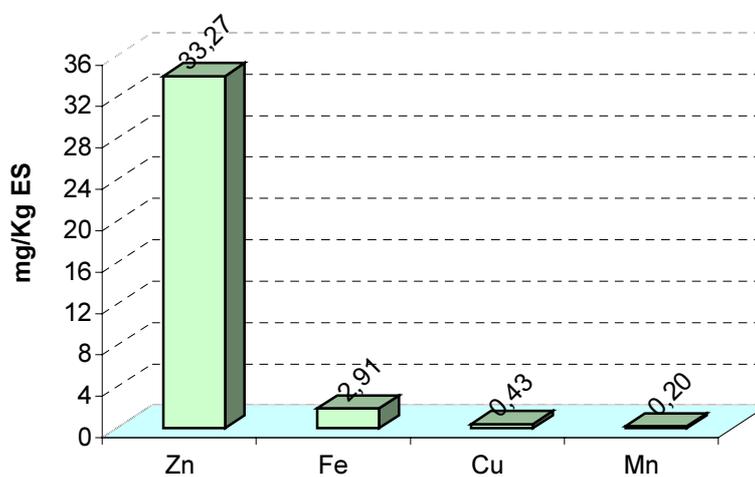


Figura 10 – Contenido en elementos minerales traza del queso San Simón fabricado de modo artesanal.

III.1.4. – Composición mineral de los quesos industriales

En la Tabla VI y Figuras 11 y 12 se muestra el contenido en elementos minerales de los quesos fabricados industrialmente.

Tabla VI. – Composición mineral del queso San Simón fabricado de modo industrial.

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	V.medios±SD
Na *	21,38	15,94	13,39	14,75	13,39	12,67	15,25±3,22
Ca *	15,65	16,92	15,65	15,92	14,97	17,69	16,14±0,99
K *	2,40	2,33	2,81	2,75	1,45	2,61	2,39±0,49
Mg *	0,58	0,75	0,71	0,64	0,62	0,65	0,66±0,06
P *	9,63	10,49	9,70	9,42	9,74	10,46	9,91±0,45
Ca/P	1,62	1,61	1,61	1,69	1,54	1,69	1,62±0,05
Fe **	1,58	1,76	1,20	1,20	1,38	2,60	1,62±0,52
Zn **	24,62	30,51	25,86	27,24	32,68	33,02	28,99±3,52
Cu **	0,55	0,46	0,66	0,44	0,36	0,45	0,49±0,10
Mn **	0,27	0,23	0,33	0,22	0,18	0,22	0,24±0,05

* Expresados como g/Kg de extracto seco.

** Expresados como mg/Kg de extracto seco.

El contenido en elementos minerales, mayoritarios y minoritarios resultó similar en ambos tipos de quesos, excepto en lo que se refiere al contenido en sodio, debido al diferente sistema de salazonado utilizado en las distintas fabricaciones. También se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en relación al contenido en Fe, que resultó más alto en los lotes artesanales, probablemente por la incorporación del mismo a los quesos debido al uso de algún utensilio. Es de resaltar el elevado contenido en Ca que presentan en ambos casos (en torno a 1000 mg/ 100 g de queso), por lo que constituyen una excelente fuente de calcio. El contenido en K (175 mg / 100 g de queso en los artesanales y 157 mg/100 g de queso en los industriales) no resultó ser muy diferente al hallado para otras variedades. El Mg alcanzó niveles en torno a los 43 mg/100 g de queso .

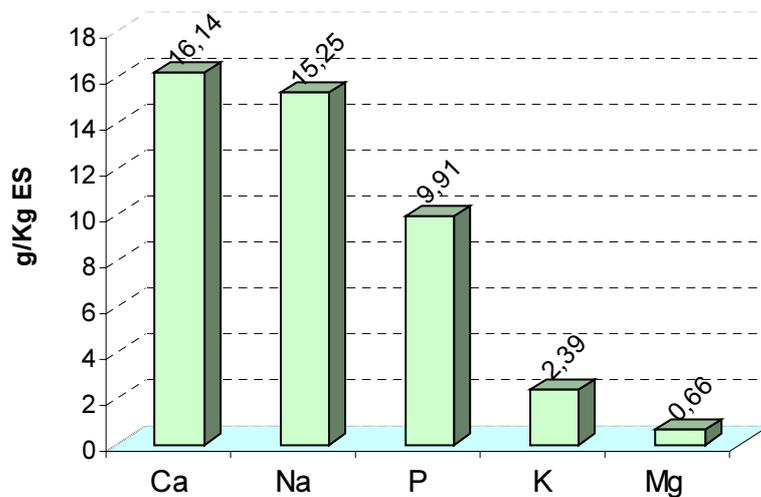


Figura 11 – Contenido en elementos minerales mayoritarios del queso San Simón fabricado de modo industrial.

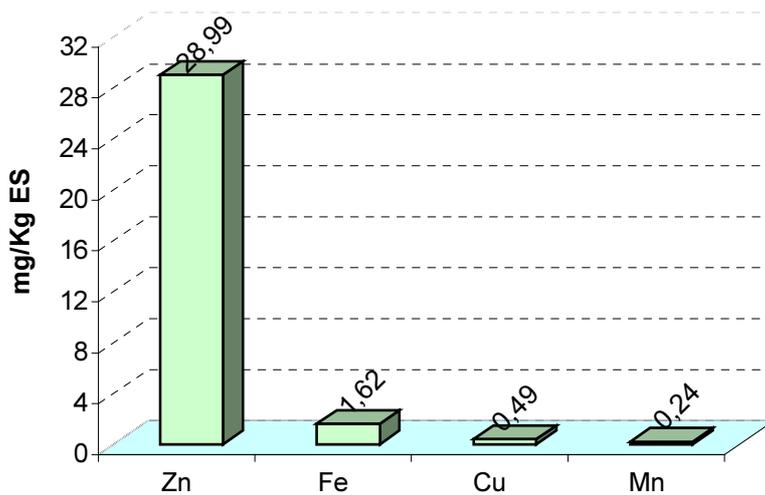


Figura 12 – Contenido en elementos minerales traza del queso San Simón fabricado de modo industrial.

III.1.5. – MEDIDA DEL GRADO DE LIPOLISIS Y PROTEOLISIS DE LOS QUESOS

III.1.5.1. - Medida del grado de lipolisis y proteolisis de los quesos artesanales

Como medida de la lipolisis se valoró la acidez de la fase grasa que da una idea bastante aproximada del grado de degradación de los lípidos a pesar que no incluye la totalidad de los ácidos grasos de cadena corta.

Los resultados obtenidos para los quesos analizados se muestran en la Tabla VII. Puede observarse que la lipolisis sufrida por estos quesos es muy ligera.

Tabla VII. – Medida del grado de lipolisis de los quesos artesanales

	A1	A2	A3	V. medios \pm S.D.
IA*	0,42	0,42	1,10	0,64 \pm 0,39

IA*: Índice de acidez de la grasa = mg KOH/g de materia grasa

Como medida de la proteolisis se siguió el sistema más ampliamente utilizado, determinándose el nitrógeno soluble total (NST) expresado como porcentaje del nitrógeno total (NT), valor conocido como índice de maduración.

En la Tabla VIII se muestran los resultados obtenidos para los tres lotes estudiados.

El porcentaje de NST/NT alcanzó un valor medio de 25,72 \pm 7,12, que pone de manifiesto que estos quesos experimentan un grado de proteolisis moderado, aunque se observaron diferencias importantes entre los tres lotes estudiados.

Tabla VIII.– Medida del grado de proteólisis de los quesos artesanales

	A1	A2	A3	V. medios \pm S.D.
NT*	6,73	6,72	6,21	6,55 \pm 0,29
NST**	32,90	25,60	18,66	25,72 \pm 7,12
NNP**	5,95	4,32	8,35	6,20 \pm 2,02
N-NH ₃ **	0,57	0,33	0,39	0,43 \pm 0,12
N-NH ₂ **	4,98	2,10	2,64	3,24 \pm 1,53

* NT expresado en g/100 g de ES

** NST: nitrógeno soluble total; NNP: nitrógeno no proteico; N-NH₃: nitrógeno amoniacal; N-NH₂: nitrógeno amínico (expresados como % sobre el NT)

III.1.5.2. - Medida del grado de lipólisis y proteólisis de los quesos industriales

Los resultados obtenidos se reflejan en las Tablas IX y X, respectivamente.

Tabla IX. – Medida del grado de lipólisis de los quesos industriales.

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	V. medios \pm S.D.
IA*	0,28	0,09	0,15	0,15	0,16	0,18	0,17 \pm 0,06

IA*: Índice de acidez de la grasa (mg KOH/g de materia grasa).

Tabla X. – Medida del grado de proteólisis de los quesos industriales

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	V. medios \pm SD
NT*	5,98	6,05	6,52	5,78	6,22	7,11	6,28 \pm 0,48
NST**	14,08	26,48	20,30	20,56	19,87	29,07	21,72 \pm 5,33
NNP**	3,44	12,11	11,24	10,42	6,89	10,20	9,05 \pm 3,27
N-NH ₃ **	0,24	0,26	0,28	0,34	0,35	0,35	0,26 \pm 0,05
N-NH ₂ **	2,60	3,42	3,26	2,34	2,46	2,52	2,76 \pm 0,45

*NT expresado en g/100g de ES.

**NST: nitrógeno soluble total; NNP: nitrógeno no proteico; N-NH₃: nitrógeno amoniacal ; N- NH₂: nitrógeno amínico (expresados como % NT)

La proteólisis resultó de menor intensidad en los quesos fabricados en las industrias, aunque las diferencias entre las distintas fracciones no resultaron significativas ($p > 0,05$) en ningún caso. Los valores obtenidos para las distintas partidas, presentaron también, como en los quesos artesanales, diferencias

bastante acusadas. El grado de lipólisis, por el contrario, si resultó significativamente diferente ($p < 0,05$) entre ambos tipos de quesos.

III. 2. – EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS COMPOSICIONALES DURANTE LA MADURACIÓN DEL QUESO SAN SIMÓN DA COSTA

III.2.1. - Evolución de los parámetros composicionales durante la maduración de los quesos artesanales

Todas las determinaciones se llevaron a cabo realizando los análisis al menos por duplicado.

Se elaboraron los lotes de quesos por diferentes artesanos según se describe en el apartado II.2.2., dejándose madurar en condiciones naturales y recogiendo las muestras a los 0, 7, 15, 30, 45 y 60 días de maduración.

III. 2.1.1. – Evolución del extracto seco de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

Los cambios sufridos por el contenido en materia seca durante la maduración se muestran en la Tabla XI y en la Figura 13. Resultaron cualitativamente semejantes en todos los lotes. El aumento experimentado por el contenido en extracto seco resultó significativo ($p < 0,05$) en los primeros siete días de maduración, experimentando como es lógico, un aumento progresivo hasta el final del proceso.

Tabla XI. – Evolución del contenido en extracto seco de los lotes artesanales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
% E.S.	41,74±1,47 ^a	52,49±1,92 ^b	54,16±0,80 ^{bc}	56,34±1,63 ^{cd}	58,68±0,62 ^{de}	59,71±0,72 ^e

* Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos por duplicado en el análisis de los 3 lotes estudiados.

^{a-e} Valores con distinto superíndice resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

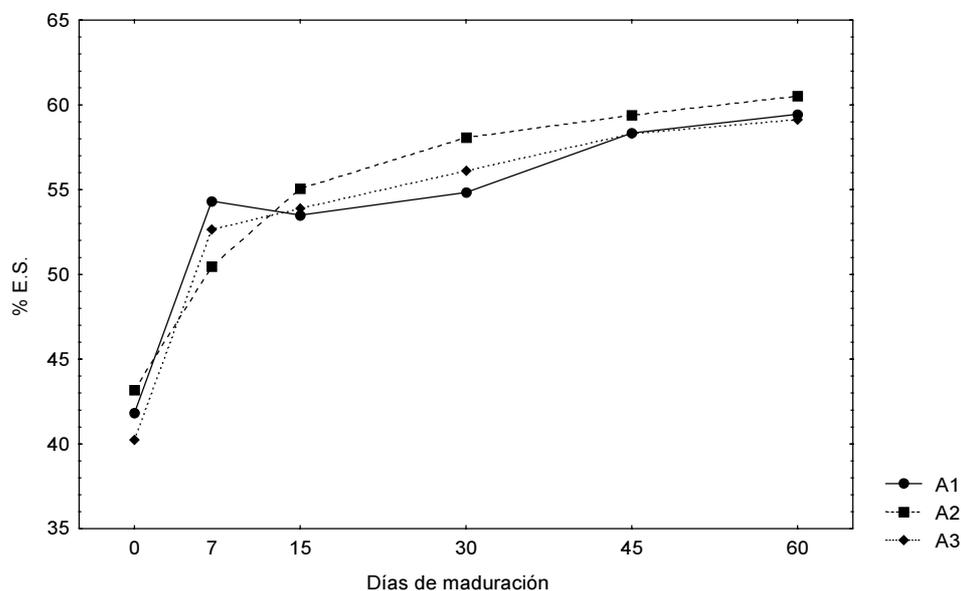


Figura 13 – Evolución del contenido en extracto seco de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

III.2.1.2. – Evolución de la lactosa y ácidos D- y L- lácticos de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

En las figuras 14 y 15, se reflejan los cambios en el contenido de lactosa y ácidos D- y L- láctico de los diferentes lotes de quesos artesanales a lo largo de la maduración, y en la tabla XII los valores medios correspondientes.

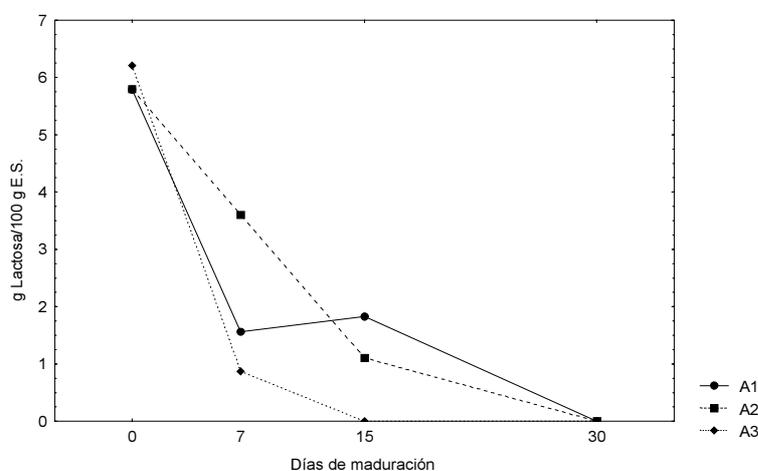


Figura 14 – Evolución del contenido en lactosa de los lotes artesanales a lo largo de la maduración

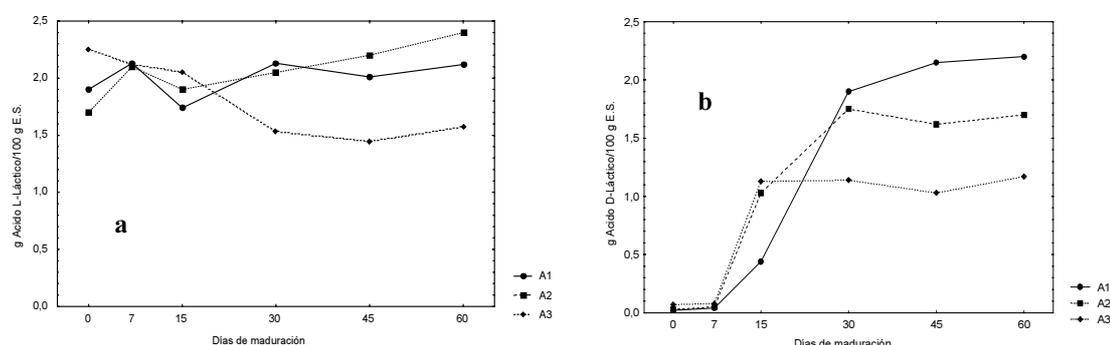


Figura 15 Evolución del contenido en ácidos L-láctico (a) y D-láctico (b) de los lotes artesanales a lo largo de la maduración

Tabla XII. – Evolución del contenido en lactosa y ácidos D- y L-láctico (g/100 g ES)* de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
Lactosa	5,93±0,23 ^a	2,01±1,41 ^b	1,47±0,36 ^{b**}	N.D.	N.D.	N.D.
D- láctico	N.D.	0,30±0,44 ^a	0,89±0,39 ^{ab}	1,60±0,40 ^b	1,40±0,64 ^b	1,69±0,51 ^b
L- láctico	1,75±0,60 ^a	2,01±0,10 ^a	1,89±0,15 ^a	1,91±0,33 ^a	1,88±0,39 ^a	2,03±0,42 ^a

*Valores medios ± desviación estandar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

** Sólo detectado en las muestras A₁ y A₂

N.D. - no detectado.

^{a-b} Valores con distinto superíndice en los diferentes periodos de maduración resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

El contenido de lactosa en las cuajadas, que osciló entre 5,79 y 6,21/100 g ES, se hizo indetectable al cabo de los 15 días. En uno de los lotes, el A₃, desapareció a partir de la primera semana de maduración.

El ácido D-láctico se incrementó de forma significativa ($p < 0,05$) en los primeros días de la maduración, permaneciendo estable el ácido L-láctico hasta el final del proceso madurativo, mientras que el D-láctico sufre un continuo incremento durante el primer mes de la maduración.

III.2.1.3. – Evolución del contenido de cloruro sódico de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

La evolución del contenido en cloruro sódico, expresado como g/100g de extracto seco y como g/100g de agua, aparece reflejada en la Tabla XIII y en las Figuras 16 y 17.

Tabla XIII. – Evolución del contenido de NaCl de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
NaCl (g/100g ES)	1,24±0,13 ^a	1,18±0,97 ^a	1,03±0,20 ^a	1,05±0,22 ^a	1,06±0,02 ^a	1,08±0,01 ^a
NaCl (g/100g H ₂ O)	0,89±0,12 ^a	1,31±0,08 ^b	1,22±0,23 ^b	1,36±0,22 ^b	1,52±0,04 ^b	1,61±0,05 ^b

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

^{a-b} Valores con distinto superíndice a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

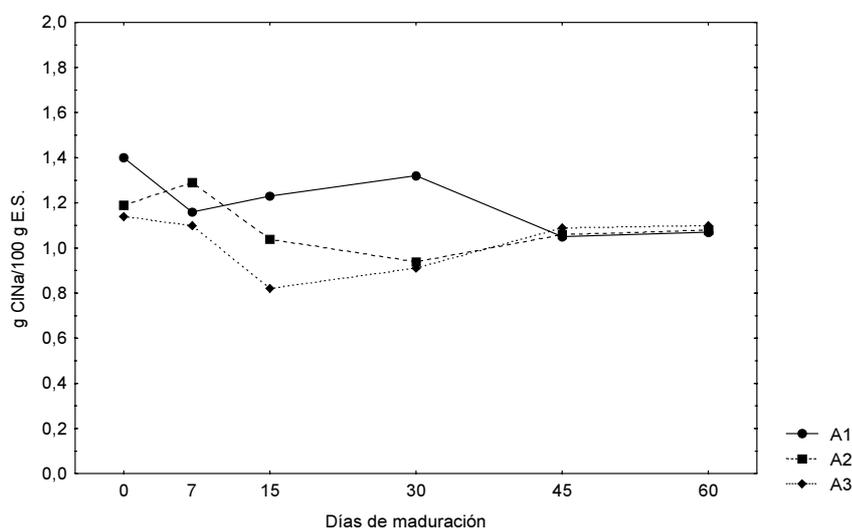


Figura 16 – Evolución del contenido salino (g NaCl/100 g ES) de los quesos artesanales a lo largo de la evolución.

La proporción de sal que resulta bastante parecida en los tres lotes es realmente muy baja. Desciende ligeramente en los primeros 15 días, pero este descenso no resulta significativo. Si los resultados se expresan como porcentaje de NaCl en la

fase acuosa (Tabla XIII y figura 17), se observa un aumento a lo largo de la maduración que sólo resultó significativo en los primeros 7 días.

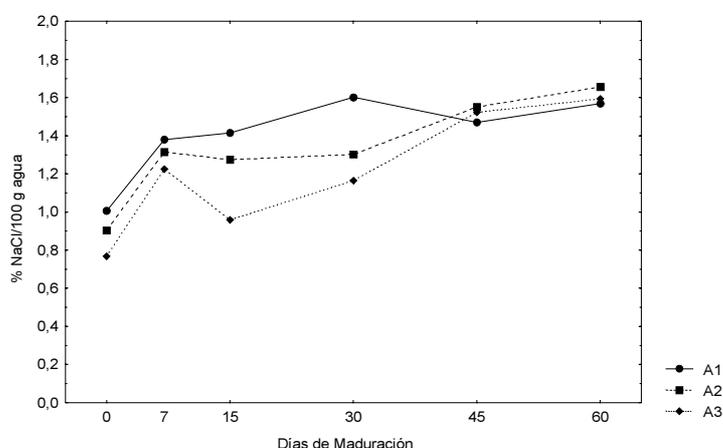


Figura 17 - Evolución del contenido en sal/humedad de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

III. 2.1.4. – Evolución del contenido en elementos minerales

El contenido en elementos minerales mayoritarios (Na, K, Ca, Mg y P) y trazas (Fe, Cu, Zn y Mn) a lo largo de la maduración aparece reflejado en la Tabla XIV y en las figuras 18-23.

Tabla XIV. – Evolución del contenido en elementos minerales mayoritarios (g/Kg de ES)* y minoritarios (mg/Kg de ES)* de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
Na*	7,28±0,94 ^a	5,47±0,32 ^a	5,71±1,21 ^a	7,79±2,78 ^a	7,41±1,03 ^a	7,34±2,50 ^a
Ca*	16,49±4,10 ^a	15,58±2,14 ^a	15,29±2,43 ^a	15,15±1,43 ^a	18,45±3,42 ^a	18,24±5,13 ^a
K*	2,83±0,23 ^a	2,23±0,20 ^a	2,26±0,10 ^a	2,81±0,96 ^a	3,07±0,47 ^a	2,94±0,90 ^a
Mg*	0,66±0,16 ^a	0,56±0,06 ^a	0,56±0,06 ^a	0,66±0,03 ^a	0,70±0,09 ^a	0,71±0,22 ^a
P*	10,36±2,60 ^a	9,65±1,28 ^a	9,51±1,41 ^a	10,24±1,22 ^a	11,38±1,90 ^a	11,36±3,09 ^a
Ca/P	1,60±0,01 ^a	1,61±0,02 ^a	1,60±0,02 ^a	1,50±0,14 ^a	1,62±0,02 ^a	1,60±0,05 ^a
Fe**	2,59±0,55 ^a	2,27±0,35 ^a	2,80±0,45 ^a	3,35±0,58 ^a	1,84±0,58 ^a	2,91±0,54 ^a
Cu**	0,49±0,13 ^a	0,39±0,03 ^a	0,37±0,02 ^a	0,48±0,05 ^a	0,41±0,03 ^a	0,43±0,10 ^a
Zn**	38,46±4,60 ^a	33,36±5,75 ^a	32,59±3,37 ^a	39,54±1,78 ^a	33,83±6,37 ^a	33,27±4,81 ^a
Mn**	0,25±0,06 ^a	0,19±0,01 ^a	0,18±0,02 ^a	0,23±0,01 ^a	0,20±0,03 ^a	0,20±0,02 ^a

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

^a Valores con el mismo superíndice para cada uno de los componentes minerales a lo largo de la maduración no fueron significativamente diferentes ($p>0,05$).

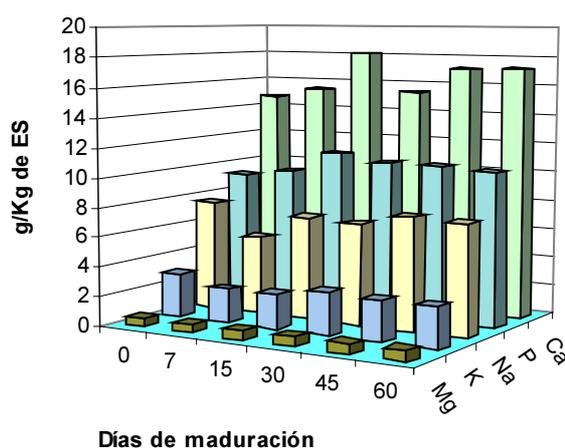


Figura 18 – Evolución de los minerales mayoritarios en el lote A1 del queso de San Simón a lo largo de la maduración.

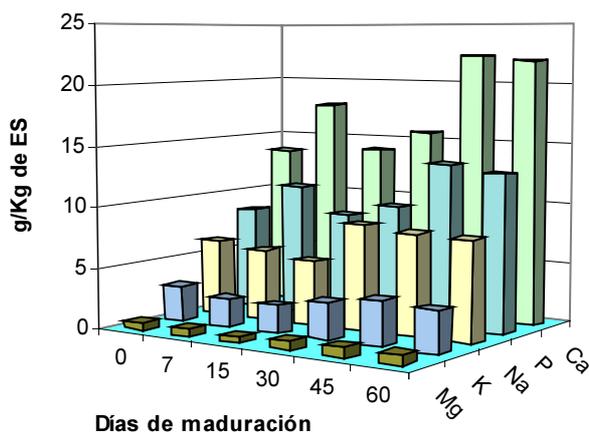


Figura 19 – Evolución de los minerales mayoritarios en el lote A2 del queso de San Simón a lo largo de la maduración.

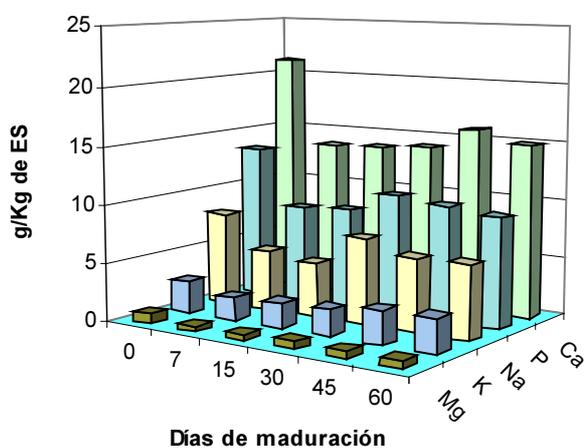


Figura 20 – Evolución de los minerales mayoritarios en el lote A3 del queso de San Simón a lo largo de la maduración.

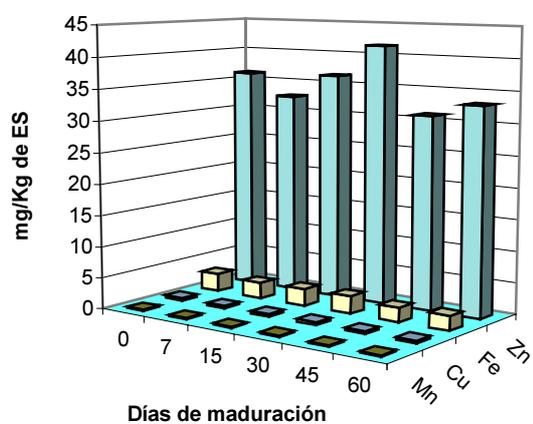


Figura 21 – Evolución de los minerales minoritarios en el lote A1 del queso de San Simón a lo largo de la maduración.

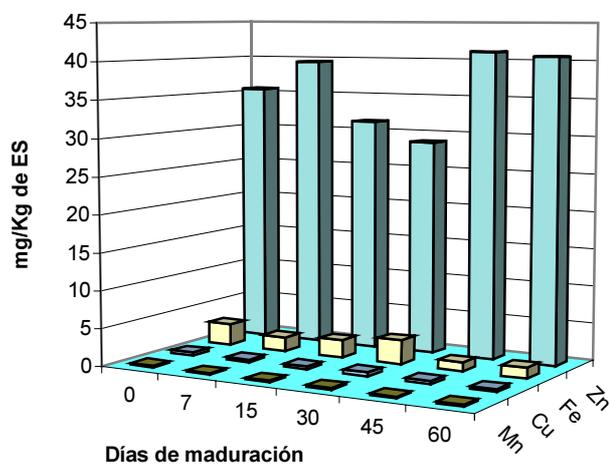


Figura 22 – Evolución de los minerales minoritarios en el lote A2 del queso de San Simón a lo largo de la maduración.

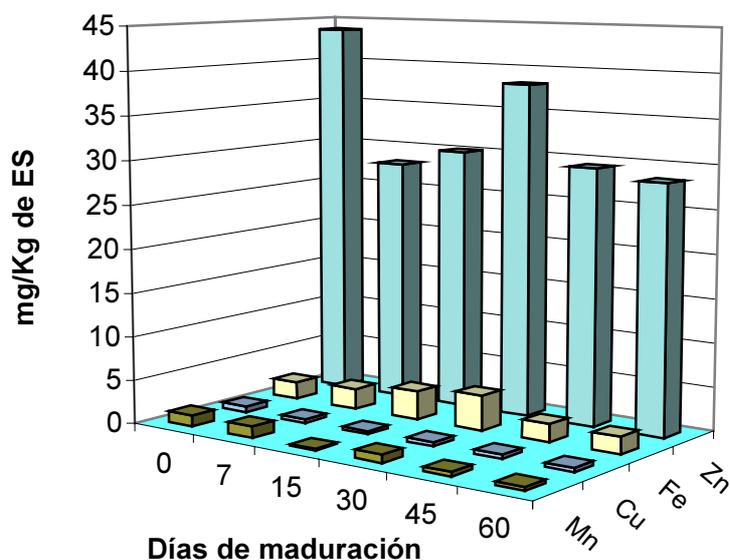


Figura 23 – Evolución de los minerales minoritarios en el lote A3 del queso de San Simón a lo largo de la maduración.

El sodio siguió una evolución semejante a la del contenido salino en todos los lotes, con valores finales expresados como g/Kg de extracto seco de $7,43 \pm 2,50$. El potasio permaneció estable durante todo el periodo madurativo alcanzando valores medios finales de $2,94 \pm 0,90$ g/Kg ES.

De igual manera el Ca y P fueron estables a lo largo de la maduración manteniéndose también constante la relación Ca/P con valores de $1,60 \pm 0,05$ al final de la misma.

El magnesio descendió ligeramente en las dos primeras semanas, para luego estabilizarse, con valores finales de $0,71 \pm 0,22$ g/Kg de ES.

Por lo que se refiere a los elementos traza, el componente que apareció en proporción más alta fue el Zn que alcanzó valores de $33,27 \pm 4,81$ mg/Kg de queso al final del proceso madurativo. El Fe está en proporción muy inferior, así como el Cu y el Mn.

III.2.1.5. – Evolución del contenido en cenizas de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

La evolución del contenido en cenizas durante la maduración de los quesos artesanales se refleja en la Tabla XV y en la figura 24.

Tabla XV. – Evolución del contenido de cenizas (g/100g ES) en los lotes de los quesos artesanales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
Cenizas	5,39±0,51 ^a	5,84±0,88 ^a	5,37±0,88 ^a	5,24±0,56 ^a	5,61±0,68 ^a	5,46±0,29 ^a

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

^a – Valores con el mismo superíndice en los diferentes días de maduración no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$).

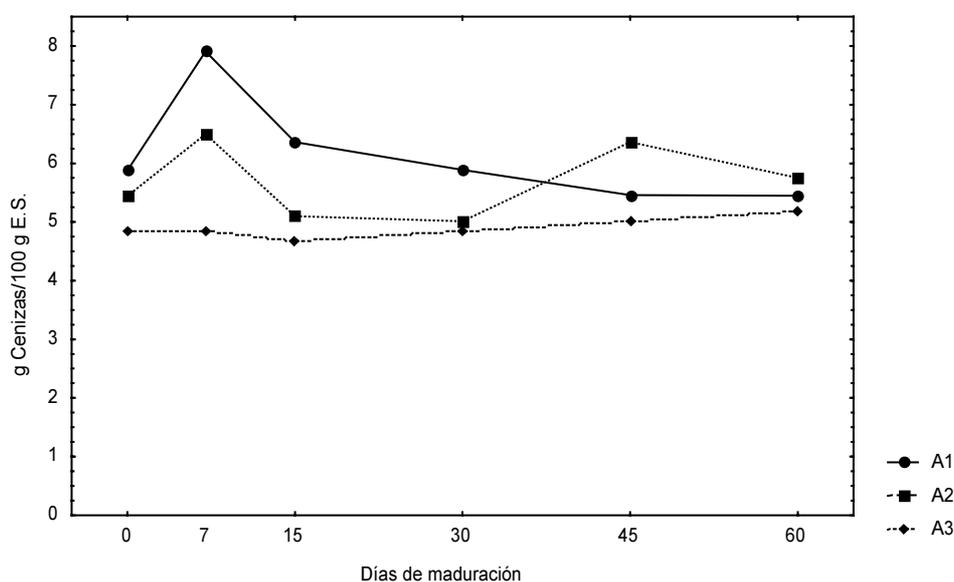


Figura 24 – Evolución de las cenizas de los lotes artesanales a lo largo de la maduración.

III.2.1.6. – Evolución de los parámetros fisico-químicos de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

III.2.1.6.1. – Evolución del pH de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

La evolución media del pH a lo largo de la maduración aparece reflejada en la Tabla XVI y en la Figura 25 se representan los valores obtenidos para los diferentes lotes de queso.

Tabla XVI. – Evolución del pH de los quesos artesanales a lo largo de la maduración. *

pH	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
	6,65±0,03 ^a	5,84±0,32 ^b	5,59±0,22 ^{bc}	5,46±0,11 ^c	5,56±0,17 ^{bc}	5,53±0,11 ^{bc}

* Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

^{a-c}Valores con distinto superíndice a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

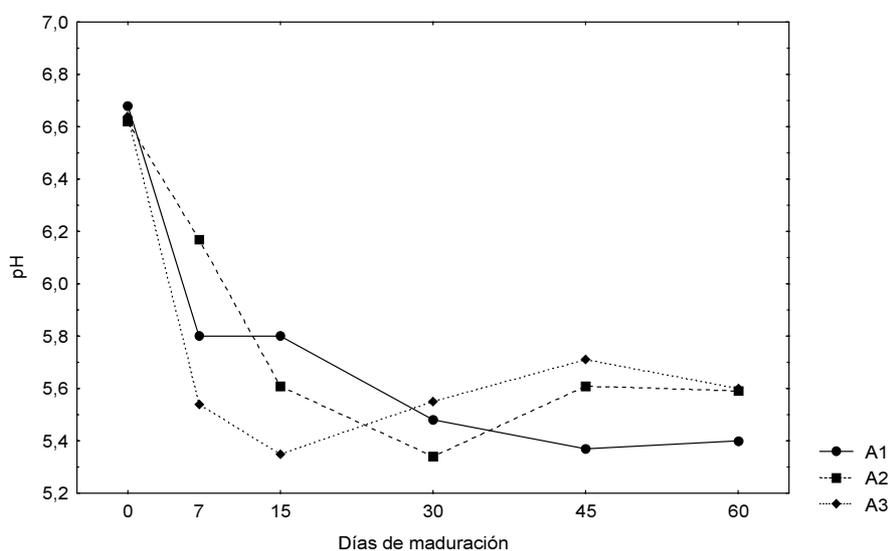


Figura 25 – Evolución del pH de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

Se puede observar que desciende significativamente a los 7 días de maduración ($p < 0,05$) para después estabilizarse hasta el final de la misma, alcanzando en las primeras etapas valores finales medios de $5,53 \pm 0,11$ lo que pone de manifiesto que se trata de un queso poco ácido.

III.2.1.6.2. – Evolución de la acidez titulable de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

Los valores medios obtenidos para la acidez titulable en el transcurso de la maduración de los quesos artesanales aparecen reflejados en la Tabla XVII. En la Figura 26, se muestran los datos obtenidos para este parámetro en los tres lotes de queso.

Tabla XVII. - Evolución de la acidez titulable (g de ácido láctico/ 100g de ES) del queso artesanal a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
AT *	$0,34 \pm 0,01^a$	$1,16 \pm 0,47^b$	$1,60 \pm 0,30^{bc}$	$1,94 \pm 0,29^{cd}$	$2,10 \pm 0,26^{cd}$	$2,18 \pm 0,22^d$

* AT – Acidez Titulable. Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

^{a-d} Valores con distinto superíndice resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

La acidez titulable aumentó de forma continuada durante la maduración, resultando las diferencias significativas ($p < 0,05$) a medida que progresa la misma.

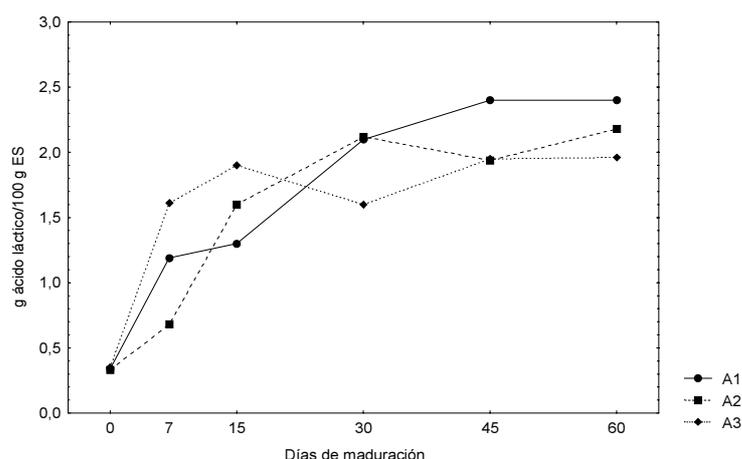


Figura 26 – Evolución de la acidez titulable en los lotes artesanales a lo largo de la maduración.

III.2.1.6.3. – Evolución de la actividad del agua

Los valores medios de la actividad del agua de los quesos artesanales en el transcurso de la maduración aparecen reflejados en la Tabla XVIII y en la Figura 27, los valores obtenidos para cada uno de los lotes.

Tabla XVIII . – Evolución media de la actividad del agua de los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
a_w	$0,983 \pm 0,055^a$	$0,976 \pm 0,006^a$	$0,974 \pm 0,005^a$	$0,973 \pm 0,004^a$	$0,966 \pm 0,008^{ab}$	$0,960 \pm 0,016^b$

* Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

^{a-b} Valores con distinto superíndice fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

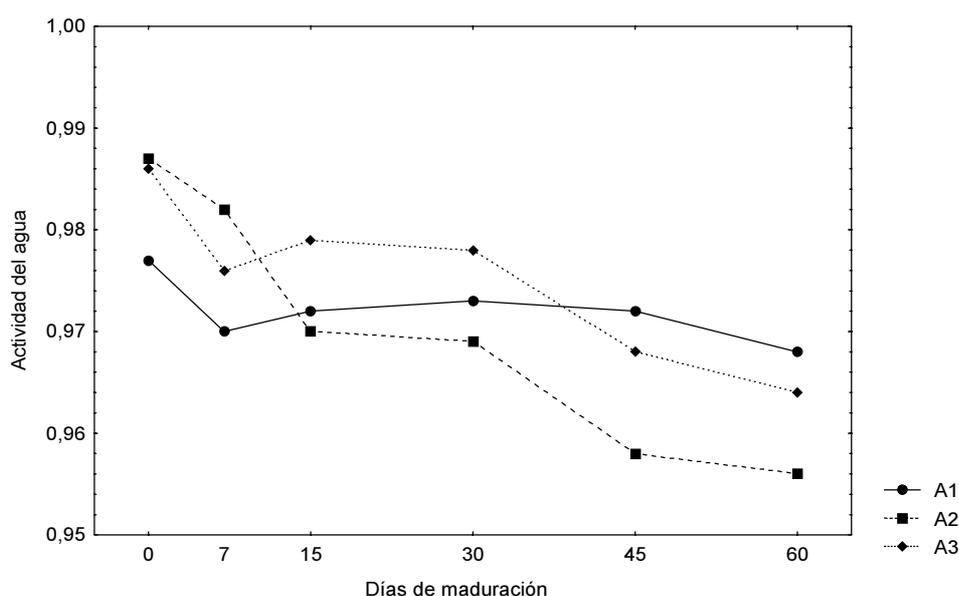


Figura 27 – Evolución de la actividad del agua en los lotes artesanales a lo largo de la maduración.

La a_w descendió gradualmente durante toda la maduración, aunque como era de esperar el descenso resultó más acusado a medida que se producía un aumento del extracto seco. Alcanzó valores finales de $0,960 \pm 0,016$.

III.2.1.7. – Evolución de los componentes nitrogenados durante la maduración de los quesos artesanales

En este apartado se exponen los datos medios obtenidos sobre la evolución de los componentes nitrogenados, fracciones de la caseína y aminoácidos libres de los tres lotes de quesos artesanales a lo largo de la maduración.

III.2.1.7.1. –Evolución de las fracciones y componentes nitrogenados de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

La evolución de las principales fracciones nitrogenadas y de los distintos componentes nitrogenados se muestran en las Tablas XIX y XX y se representan gráficamente en las Figuras 28, 29, 30, 31 y 32.

Tabla XIX. – Evolución de las distintas fracciones nitrogenadas (expresadas como % NT) de los lotes artesanales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
NT**	6,92±0,79 ^a	7,32±0,72 ^a	6,89±1,26 ^a	6,16±0,86 ^a	6,52±0,25 ^a	6,55±0,29 ^a
NST	5,80±0,05 ^a	5,98±0,66 ^a	11,58±2,87 ^b	16,97±3,63 ^{bc}	24,20±7,27 ^{cd}	25,72±7,12 ^d
NNP	1,51±0,27 ^a	1,78±0,33 ^a	2,32±0,40 ^a	3,74±1,59 ^{ab}	5,71±1,75 ^b	6,20±2,02 ^{bc}
N-NH ₃	0,22±0,12 ^a	0,23±0,11 ^a	0,19±0,02 ^a	0,29±0,02 ^a	0,35±0,12 ^{ab}	0,43±0,12 ^b
N-NH ₂	N.D.	0,42±0,25 ^a	0,61±0,04 ^a	1,34±0,52 ^b	2,89±1,57 ^{bc}	3,24±1,53 ^c

NST: nitrógeno soluble total; NNP: nitrógeno no proteico; N-NH₃: nitrógeno amoniacal ; N-NH₂: nitrógeno amínico.

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

** NT expresado como g/100g de ES.

N.D. – No detectado.

^{a-d} Valores con distinto superíndice para cada una de las fracciones nitrogenadas a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

El NST se incrementó continuamente a lo largo de la maduración, llegando prácticamente a duplicarse entre los 7 y 15 días, finalmente, alcanzó valores de 25,72±7,12 lo que indica que este queso sufre un grado moderado de proteolisis.

El nitrógeno no proteico (NNP) se incrementó paralelamente con el anterior, representando entre el 19 y el 26% del NST.

El nitrógeno amínico (N-NH₂) aumentó de forma significativa ($p < 0,05$) en los puntos finales de muestreo, aunque se detectaron grandes diferencias con uno de los distintos lotes (el A1) . En las cuajadas no apareció y al final del proceso madurativo alcanzó valores de 3,24±1,53 g N-NH₂/100 g NT.

El nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se mantuvo prácticamente constante hasta el final de la maduración, incrementándose significativamente sólo al final de la misma, con valores finales de 0,43±0,12 g N-NH₃/100 g NT.

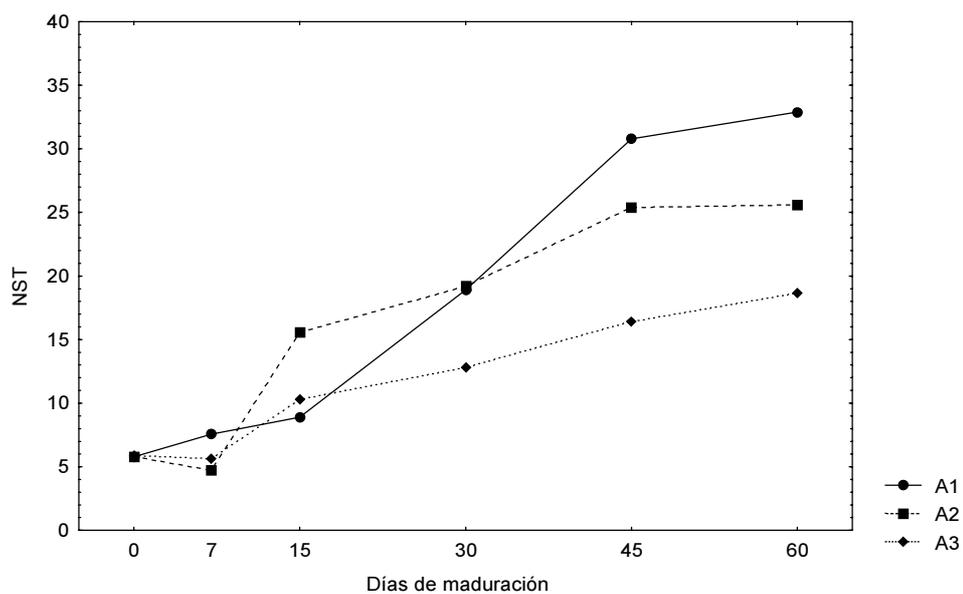


Figura 28 - Evolución del Nitrógeno Soluble Total (% NST/NT) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

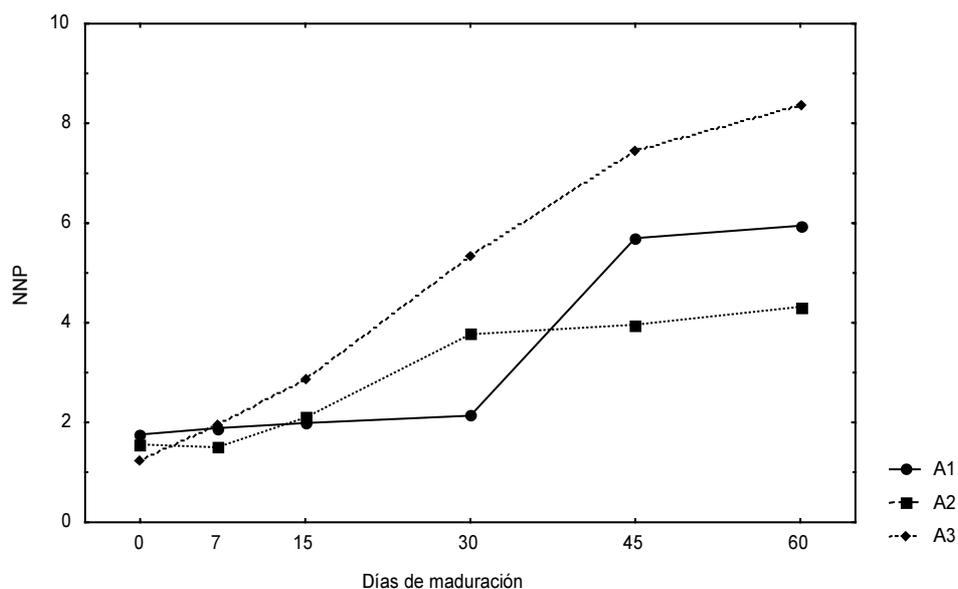


Figura 29 - Evolución del Nitrógeno No Proteico (% NNP/NT) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

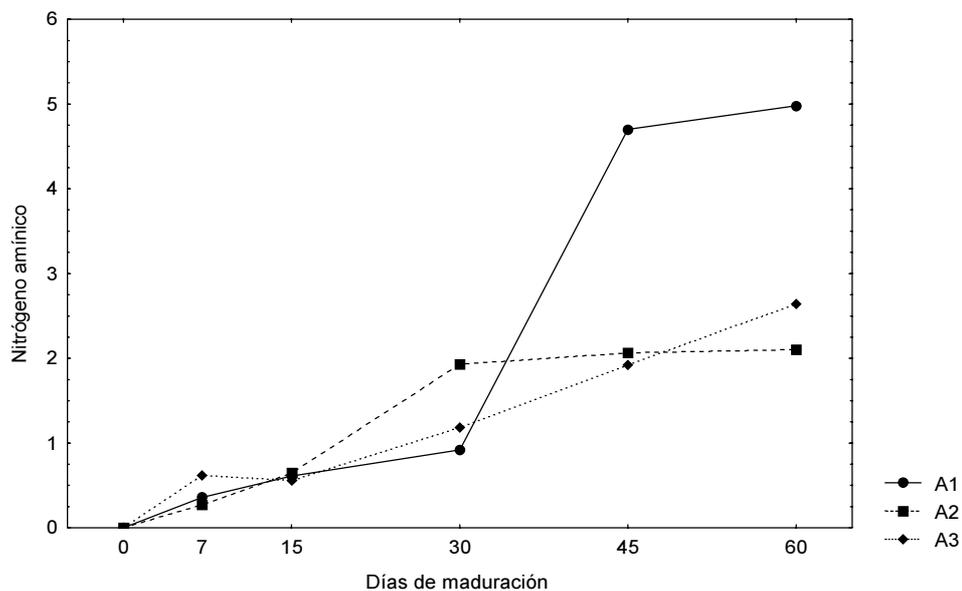


Figura 30 – Evolución del Nitrogeno amínico (%N-NH₂/NT) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

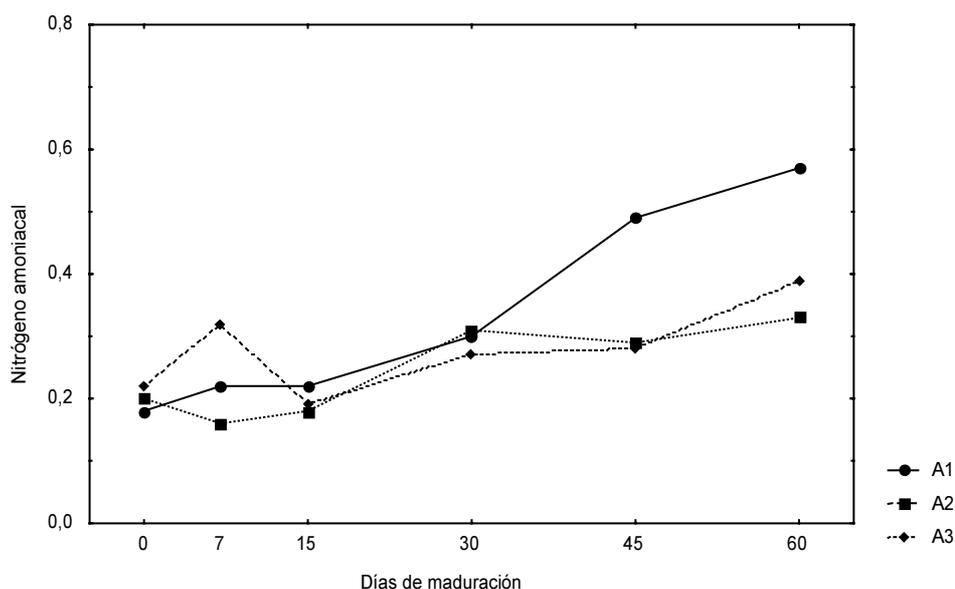


Fig. 31 - Evolución del nitrógeno amoniacoal (% N-NH₃/NT) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

El nitrógeno proteico (NP), calculado como $100 - \text{NNP}$, y el nitrógeno caseínico (NC), calculado como $100 - \text{NST}$, sufren una disminución a lo largo de la maduración, alcanzando valores medios al final de la misma de $93,79 \pm 2,02$ g NP/100g NT y $74,28 \pm 7,12$ g NC/100g NT, respectivamente.

La fracción proteosa-peptona (Npp), calculada como NST – NNP, sufrió incremento importante a los 15 días de maduración, luego siguió ascendiendo progresivamente hasta alcanzar en torno al 20% del nitrógeno total al final de la maduración. El nitrógeno peptídico (Npept), calculado como NNP – (N-NH₃ + N-NH₂), mostró un fuerte incremento al cabo del primer mes de maduración más acusado entre los 15 y 45 días, pero las diferencias no resultaron estadísticamente significativas en ningún caso. Al final de la maduración alcanzó valores medios de 2,54±2,52.

Tabla XX. – Evolución de los distintos componentes nitrogenados (expresados como % NT) en los quesos artesanales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
NP	98,49±0,27 ^a	98,21±0,25 ^a	97,68±0,49 ^a	96,26±1,59 ^{ab}	94,23±1,75 ^b	93,79±2,02 ^b
NC	94,20±0,05 ^a	94,02±1,45 ^a	89,42±4,84 ^{ab}	83,03±3,63 ^b	75,80±7,27 ^{bc}	74,28±7,12 ^c
Npp	4,29±0,31 ^a	4,19±1,31 ^a	8,26±4,28 ^{ab}	9,26±3,67 ^b	13,23±5,04 ^b	18,49±8,47 ^c
Npept	1,31±0,28 ^a	1,14±0,15 ^a	1,52±0,53 ^a	2,11±0,56 ^a	2,46±2,49 ^a	2,54±2,52 ^a

NP: Nitrógeno proteico; NC: Nitrógeno caseínico; Npp: Nitrógeno proteasa-peptona; Npept: Nitrógeno peptídico.

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en la análisis de los 3 lotes.

^{a - c} Valores con distinto superíndice para cada componente fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

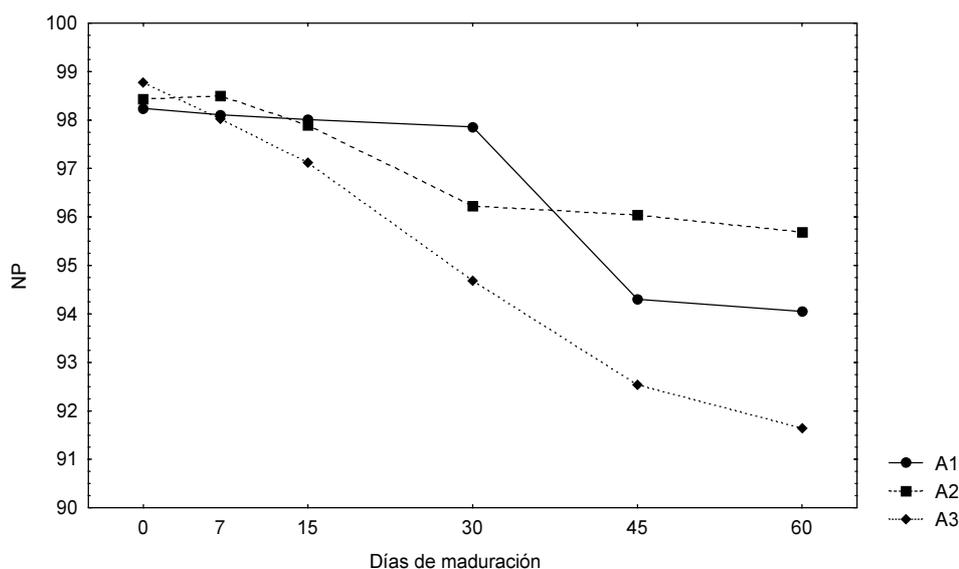


Figura 32 – Evolución del nitrógeno proteico (NP) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

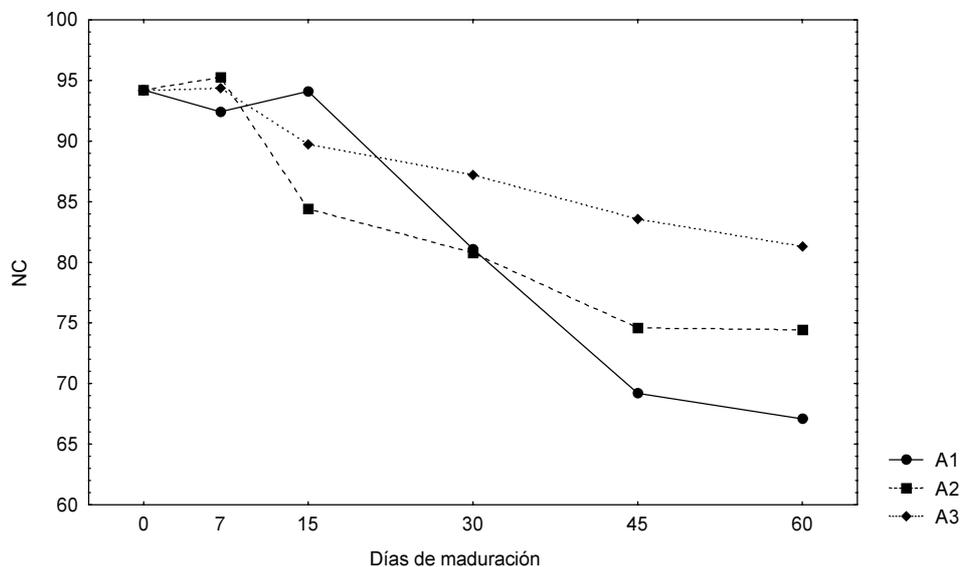


Figura 33 – Evolución del nitrógeno caseínico (NC) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

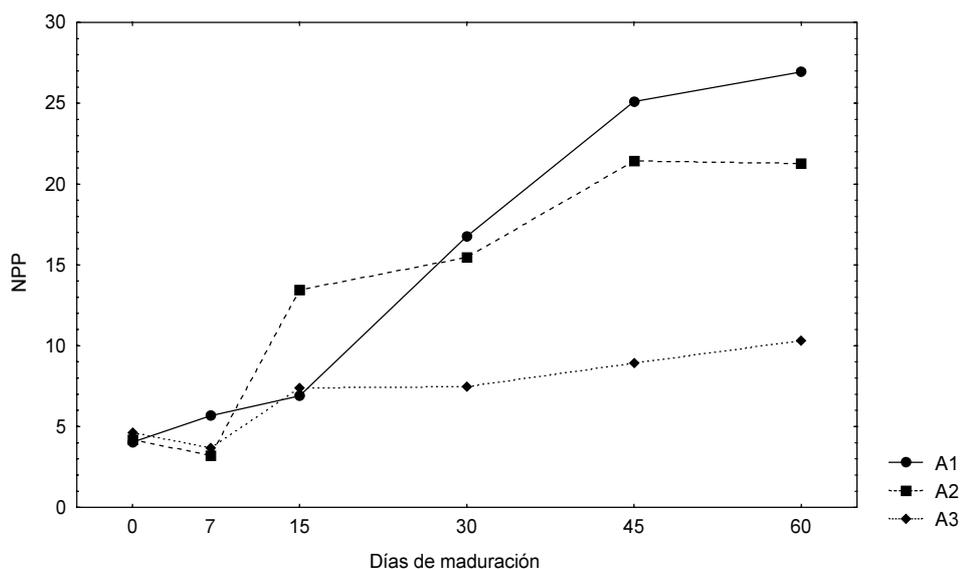


Figura 34 – Evolución del nitrógeno proteosa-peptona (Npp) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

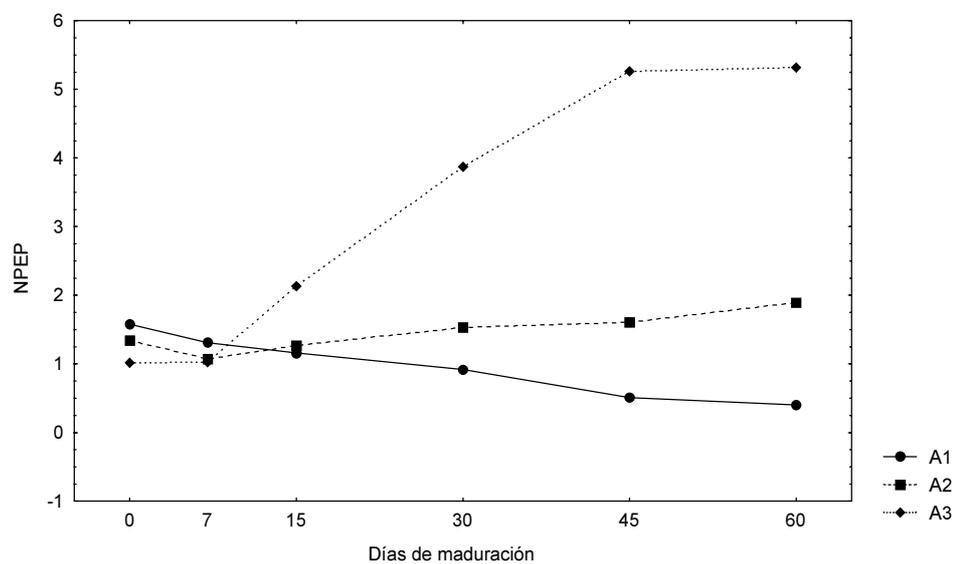


Figura 35 – Evolución del nitrógeno peptídico (Npep) durante la maduración en el queso San Simón fabricado artesanalmente.

III.2.1.7.2. – Cambios sufridos por las caseínas y sus productos de degradación durante la maduración de los quesos artesanales

En la figura 37 se presentan los electroferogramas obtenidos en el estudio de la evolución de las diferentes fracciones de las caseínas a lo largo de la maduración de uno de los tres lotes estudiados, así como los densitogramas de los geles obtenidos para la muestra de cuajada y quesos al final de la maduración. Los valores medios de las proporciones relativas de las caseínas γ -, β -, α - y pre- α -, expresadas como porcentaje de la densidad óptica total a lo largo de la maduración se recogen en la Tabla XXI, así como la relación α/β .

Tabla XXI. – Valores medios de las proporciones relativas de las distintas fracciones de caseína (porcentaje de la densidad óptica total) de los lotes artesanales. *

	Días de maduración				
	0	7	15	30	60
γ -CN	10,52±4,94 ^{ac}	8,75±4,53 ^a	12,81±3,89 ^{ab}	16,25±4,37 ^b	19,45±4,24 ^b
β -CN	23,56±1,26 ^a	16,17±5,60 ^{ab}	21,02±5,92 ^a	16,91±2,39 ^{ab}	13,81±5,15 ^b
O.D.	¹ 7,03±0,77	¹ 4,78±1,67	3,00±1,30	4,01±1,68	5,99±0,62
α_{s1} -CN	47,69±0,53 ^a	38,07±8,04 ^b	30,72±5,65 ^c	17,73±2,70 ^d	11,59±5,37 ^d
O.D.	N.D.	2,52 **	² 3,76±0,09	4,16 ***	¹ 4,51±0,13
α_{s1} -I –CN	3,26±1,48 ^a	10,17±4,52 ^b	10,71±2,05 ^b	14,86±0,48 ^b	14,39±3,15 ^c
Pre- α -CN	7,61±1,62 ^a	12,79±6,45 ^{ab}	19,23±2,75 ^b	29,01±3,32 ^c	35,76±9,94 ^d
α/β	2,02±0,01 ^a	1,48±0,01 ^a	1,455±0,06 ^b	1,05±0,03 ^c	0,81±0,04 ^c

*Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

¹ No aparece en el lote A3

² No aparece en el lote A1

**Esta fracción apareció únicamente en el lote A3.

***Esta fracción apareció únicamente en el lote A2.

^{a-d} Valores con distinto superíndice para cada una de las fracciones de caseína a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$)

N.D. No detectada.

Es posible observar una degradación de las distintas fracciones de caseína, principalmente la β - y la α -caseína, pasando la relación α_s/β de 2,02±0,01 en la cuajada a 0,81±0,04 al final del periodo madurativo, aunque ya a los 30 días las diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

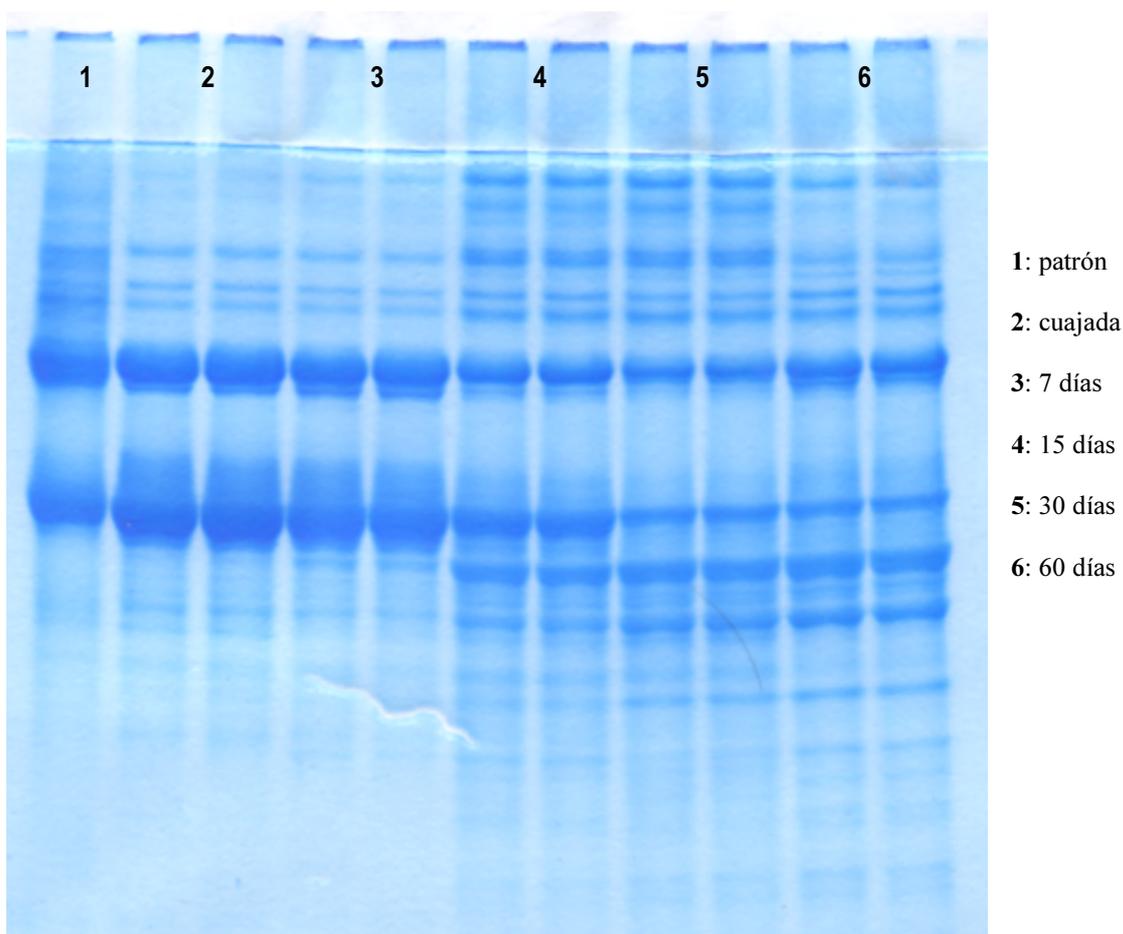


Figura 36 a - Electroforetograma de las caseínas y sus productos de degradación en una partida de queso de San Simón elaborado artesanalmente.

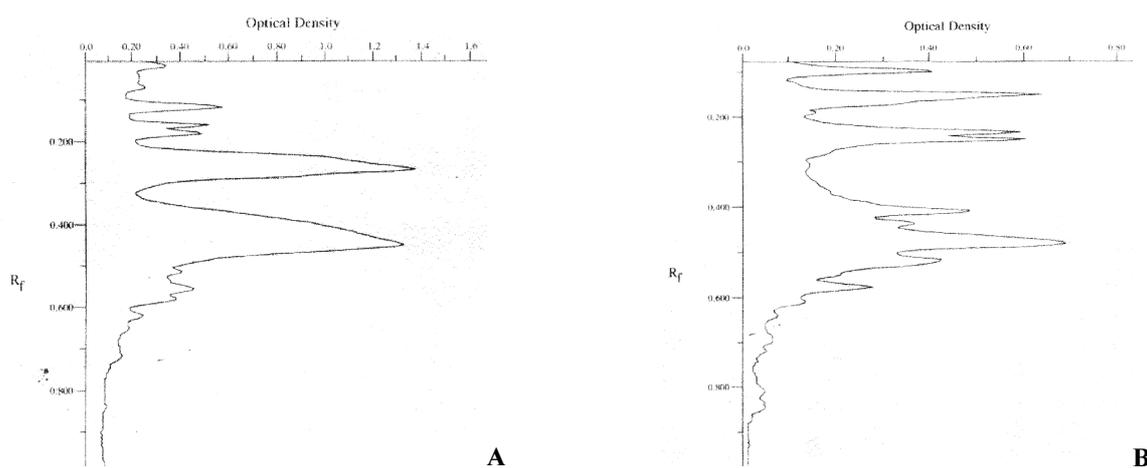


Figura 36 b - Densitogramas de las caseínas y sus productos de degradación en la cuajada (A) y en queso de 60 días de maduración (B) del lote representado en la figura 37 a.

III.2.1.7.3. – Evolución del contenido en aminoácidos libres de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

Los cambios en el contenido en aminoácidos libres en los quesos artesanales, se encuentran reflejados en la Tabla XXII y en las Figuras 38,39 y 40. En la figura 41, se incluye uno de los cromatogramas obtenidos, en este caso el correspondiente al lote A1 a los 60 días de maduración.

El método utilizado ha permitido identificar y cuantificar veinte aminoácidos así como la mezcla de ácido γ -amino butírico (GABA) + taurina.

En los distintos periodos del proceso madurativo aumentaron prácticamente todos los aminoácidos de forma significativa ($p < 0,05$), aunque se apreciaran diferencias notables entre las distintas partidas.

En los quesos madurados, los aminoácidos mayoritarios resultaron ser el ácido glutámico, el triptófano la leucina, y la arginina, seguidos de la fenilalanina, la valina, la lisina y la metionina. En conjunto, estos 8 aminoácidos representaran el 75% del total de aminoácidos presentes.

El contenido global de aminoácidos libres aumentó de valores iniciales de $23,75 \pm 33,79$ hasta $3139,42 \pm 537,83$ g/100 g ES, al final de la maduración.

Tabla XXII. – Evolución media de los aminoácidos libres (mg/100g ES) de los lotes artesanales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración				
	0	7	15	30	60
ASP	**9,80	N.D.	12,02±10,49 ^a	35,75±4,41 ^b	86,85±21,23 ^c
GLU	4,90±6,93 ^a	14,76±1,32 ^a	39,01±25,78 ^a	136,30±56,93 ^b	554,37±263,13 ^c
ANS	N.D.	2,71 **	3,53±1,51 ^a	10,74±8,95 ^a	94,37±43,41 ^b
SER	N.D.	N.D.	5,50±2,46 ^a	14,22±10,45 ^a	41,23±16,53 ^b
GLN	N.D.	N.D.	8,29±2,46 ^a	24,01±13,67 ^b	96,80±33,38 ^c
GLY	2,60±2,62 ^a	N.D.	3,55±0,83 ^a	9,12±2,26 ^b	40,26±5,21 ^c
HIS	N.D.	1,96 **	2,87±1,36 ^a	4,85±2,20 ^a	18,17±10,71 ^b
GABA/TAU	3,38±4,63 ^a	0,61±0,53 ^a	1,11±0,12 ^a	1,97±0,65 ^a	17,22±12,96 ^b
ARG	N.D.	8,07±10,56 ^a	23,80±26,60 ^a	84,64±70,55 ^a	371,89±323,43 ^b
THR	N.D.	N.D.	3,92±1,51 ^a	14,57±7,53 ^b	77,62±19,00 ^c
ALA	3,61±4,35 ^a	2,91±1,42 ^a	6,32±1,28 ^a	15,44±6,05 ^b	74,18±26,13 ^c
PRO	4,50±2,20 ^a	5,17±3,03 ^a	6,23±4,13 ^a	13,60±3,92 ^a	76,20±42,31 ^b
TYR	10,67 **	6,60 **	5,37±8,57 ^a	9,99±8,73 ^a	35,39±40,93 ^b
VAL	0,38±0,33 ^a	4,84±3,27 ^a	12,95±8,64 ^b	40,30±18,16 ^c	188,28±76,98 ^d
MET	N.D.	1,25±1,14 ^a	3,94±2,66 ^a	15,46±3,90 ^b	123,86±80,07 ^c
ILE	N.D.	0,93±0,93 ^a	3,61±1,24 ^a	11,15±3,87 ^a	74,22±48,51 ^c
LEU	3,83±5,42 ^a	5,49±5,22 ^a	23,78±15,82 ^b	79,15±30,73 ^c	385,65±159,42 ^d
PHE	N.D.	6,55±7,27 ^a	24,13±16,07 ^b	82,45±20,15 ^c	263,30±42,38 ^d
TRP	N.D.	3,40±2,22 ^a	18,55±18,71 ^a	104,77±64,87 ^b	404,89±130,29 ^c
LYS	6,63±7,65 ^a	3,47±3,03 ^a	8,82±6,29 ^a	26,67±21,09 ^b	124,67±59,16 ^c
TOTAL	24,40±33,40^a	60,81±40,97	217,31±125,84	735,16±253,5	3139,42±537,83

ASP: Ácido aspártico; GLU: Ácido glutámico; ANS: Asparragina; SER: Serina; GLN: Glutamina; GLY: Glycina; HIS: Histidina; GABA/TAU: Gaba/Taurina; ARG: Arginina; THR: Treonina; ALA: Alanina; PRO: Prolina; TYR: Tirosina; VAL: Valina; MET: Metionina; ILE: Isoleucina; LEU: Leucina; PHE: Fenilalanina; TRP: Triptófano; LYS: Lisina.

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

N.D. No detectado

** Sólo detectado en el lote A3.

^a - ^d Valores con distinto superíndice para cada uno de los aminoácidos fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

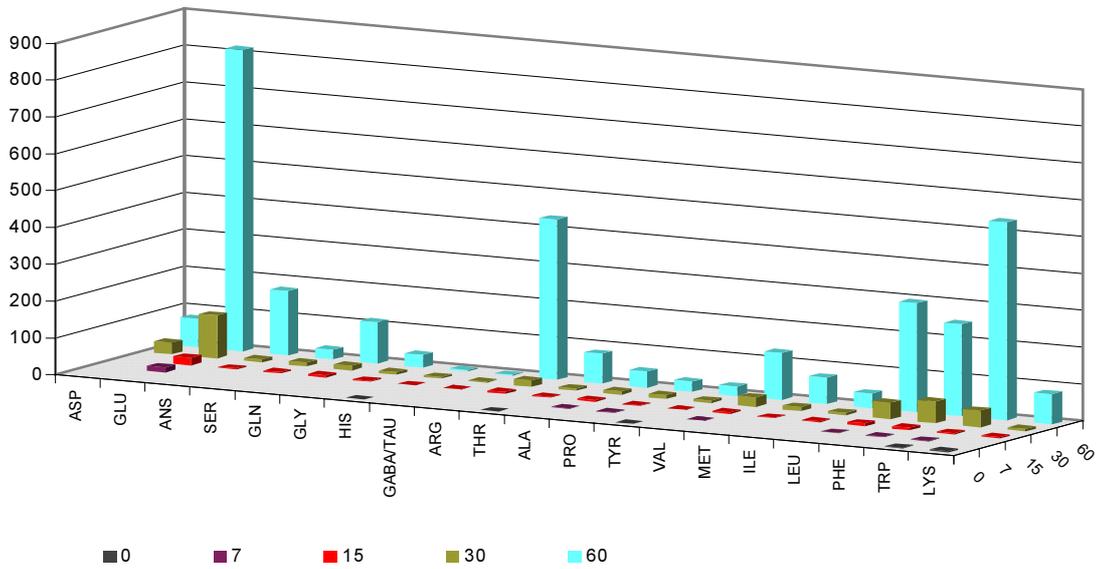


Figura 37 - Evolución de los aminoácidos libres del lote A1 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

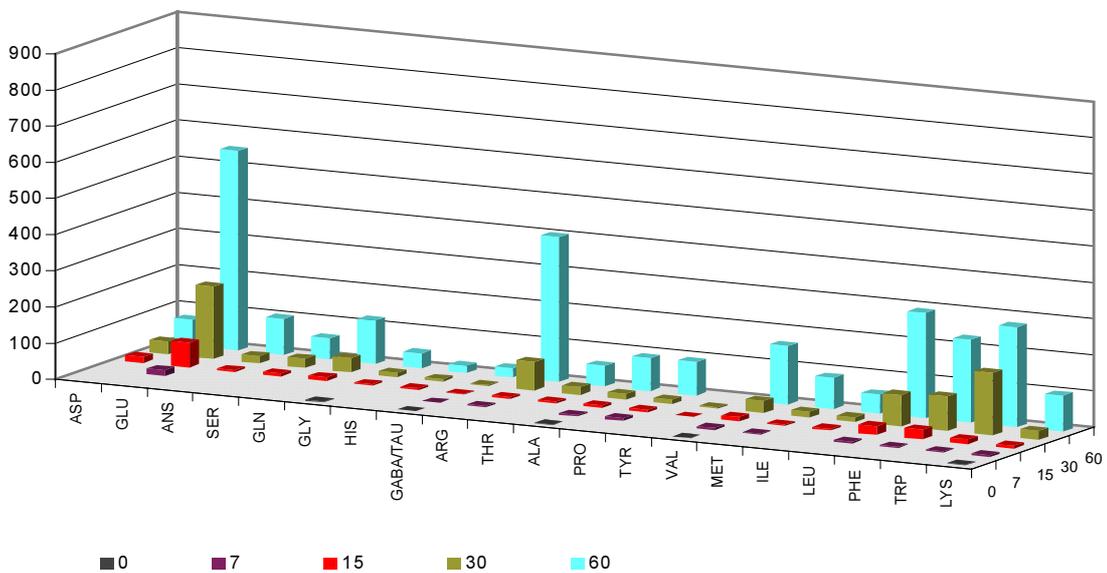


Figura 38 - Evolución de los aminoácidos libres del lote A2 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

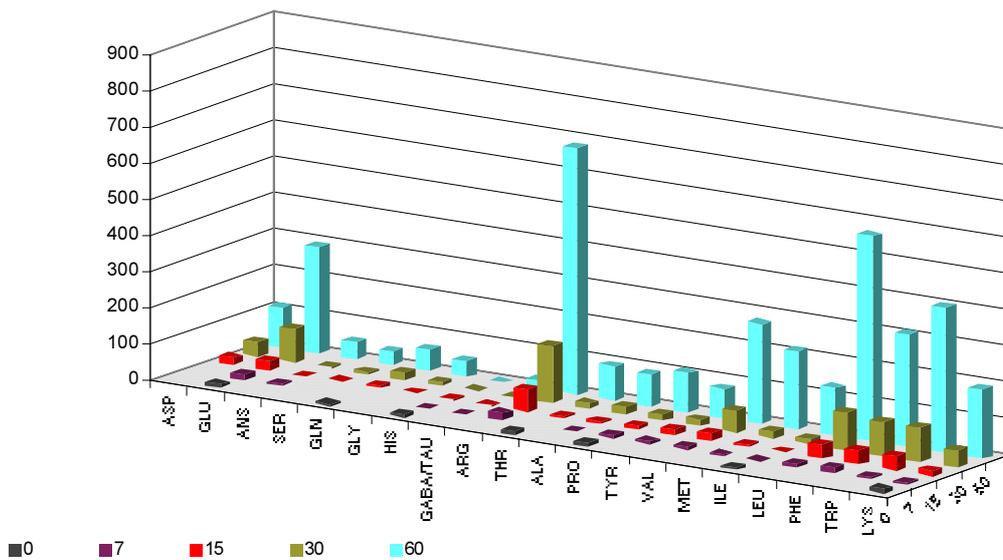


Figura 49 - Evolución de los aminoácidos libres del lote A3 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

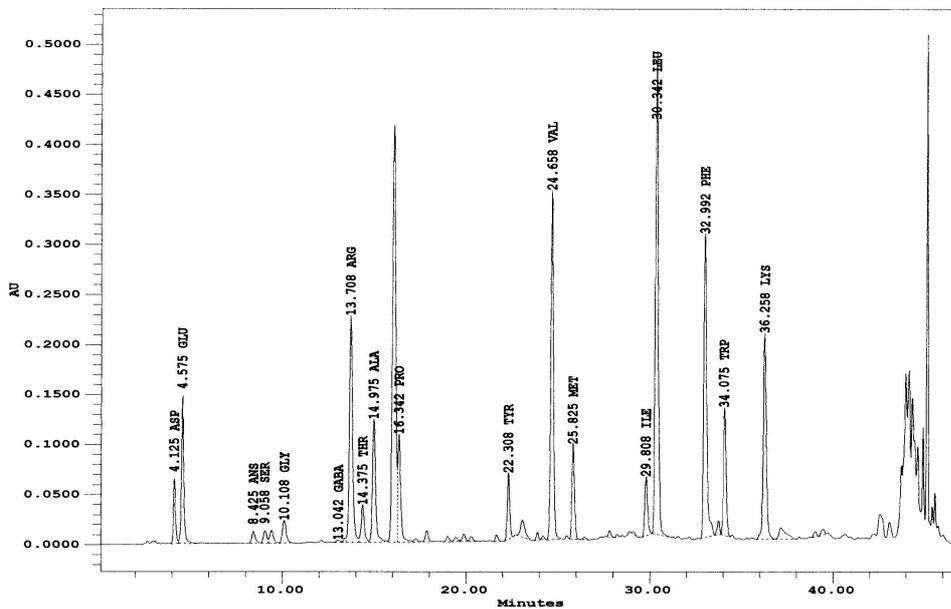


Figura 40 - Cromatograma de los aminoácidos libres de un queso de 60 días de maduración (lote A1) obtenido por inyección de 20 µl de muestra.

III.2.1.8. – Evolución de la fracción lipídica

III. 2.1.8.1. – Cambios sufridos por el índice de acidez de la grasa de los quesos artesanales durante la maduración

El grado de lipólisis de los lotes artesanales del queso San Simón se midió a través de las determinaciones del índice de acidez de la grasa. La Tabla XXIII y la Figura 42 muestran los cambios sufridos durante el periodo de maduración.

Se puede observar que aunque el índice de acidez de la grasa se incrementó de forma significativa a partir de los 15 días de maduración, los valores alcanzados no son elevados por lo que se puede asegurar que las reacciones lipolíticas son escasas en estos quesos.

Tabla XXIII. – Evolución media del índice de acidez de la grasa en los lotes artesanales a lo largo de la maduración.*

	Días de maduración				
	0	7	15	30	60
Grasa **	51,39±4,71 ^a	47,24±6,24 ^a	48,49±4,68 ^a	49,43±3,16 ^a	48,55±5,17 ^a
IA	0,17±0,04 ^{***}	0,14±0,06 ^a	0,20±0,07 ^a	0,54±0,34 ^b	0,64±0,39 ^b

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

** Grasa; % ES; IA: Índice de acidez de la grasa (mg KOH/gde materia grasa).

*** No se han incorporado los datos del lote A2.

^{a-b} Valores con distinto superíndice para cada uno de los parámetros determinados a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

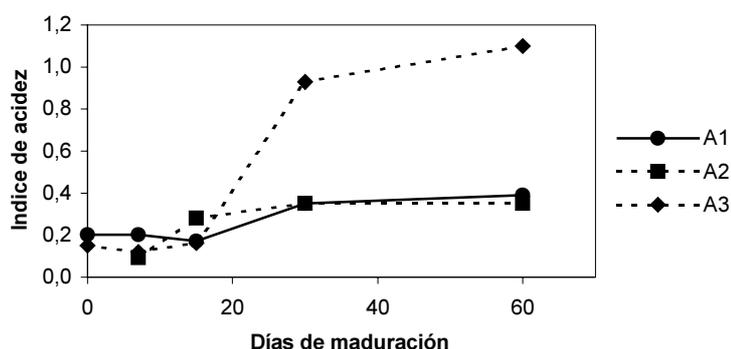


Figura 41 - Evolución del índice de acidez de la grasa de los diversos lotes del queso de San Simón artesanal a lo largo de la maduración.

III.2.1.8.2. – Evolución de los ácidos grasos libres de los quesos artesanales a lo largo de la maduración

La evolución media del contenido de ácidos grasos libres (AGL) durante la maduración se muestra en la Tabla XXIV y en las Figuras 43, 44 y 45, se reflejan los datos obtenidos para cada uno de los lotes estudiados. En la Figura 46 aparece uno de los cromatogramas obtenidos para uno de los lotes a los 60 días de maduración.

Tabla XXIV. – Evolución del contenido en ácidos grasos libres (mg/Kg de queso) de los lotes artesanales a lo largo de la maduración.*

AGL	Días de maduración				
	0	7	15	30	60
C ₄	68,61±61,03 ^a	41,56±8,56 ^a	51,39±32,17 ^a	312,96±466,18 ^a	403,98±586,44 ^a
C ₆	16,14±8,12 ^a	15,43±13,36 ^a	7,81±7,36 ^a	11,51±9,99 ^a	13,84±12,14 ^a
C ₈	**12,66	1,20±2,07 ^a	N.D.	N.D.	1,47±2,54 ^a
C ₁₀	**13,69	1,98±3,43 ^a	N.D.	1,12±1,93 ^a	4,36±7,55 ^a
C ₁₂	12,42±6,34 ^a	13,15 ±11,62 ^a	7,78 ± 7,44 ^a	14,98±13,18 ^a	17,20±18,29 ^a
C ₁₄	36,09±12,66 ^a	32,84±19,88 ^a	28,37±11,43 ^a	39,10±28,24 ^a	45,06±35,52 ^a
C _{18:2}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C ₁₆	119,75±27,71 ^a	135,43±46,18 ^a	114,74±20,17 ^a	143,57±86,73 ^a	175,25±124,24 ^a
C _{18:1}	237,80±52,32 ^a	232,70±112,62 ^a	214,65±84,70 ^a	212,61±126,53 ^a	250,07±194,74 ^a
C ₁₈	22,14±8,65 ^a	21,91±10,67 ^a	17,07±7,39 ^a	19,66±13,80 ^a	25,06±23,14 ^a
Σagl	539,36±268,08	489,49±235,45	408,47±106,29	755,48±200,80	801,23±304,42

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

N.D. – No detectado.

** No se han considerado los valores obtenidos para la muestra A2.

^{a-b} Valores con distinto superíndice para cada uno de los ácidos grasos libres a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Puede observarse que existió una gran variabilidad entre los distintos lotes estudiados y que el contenido total de los ácidos grasos libres evolucionó de modo muy irregular en los quesos fabricados artesanalmente.

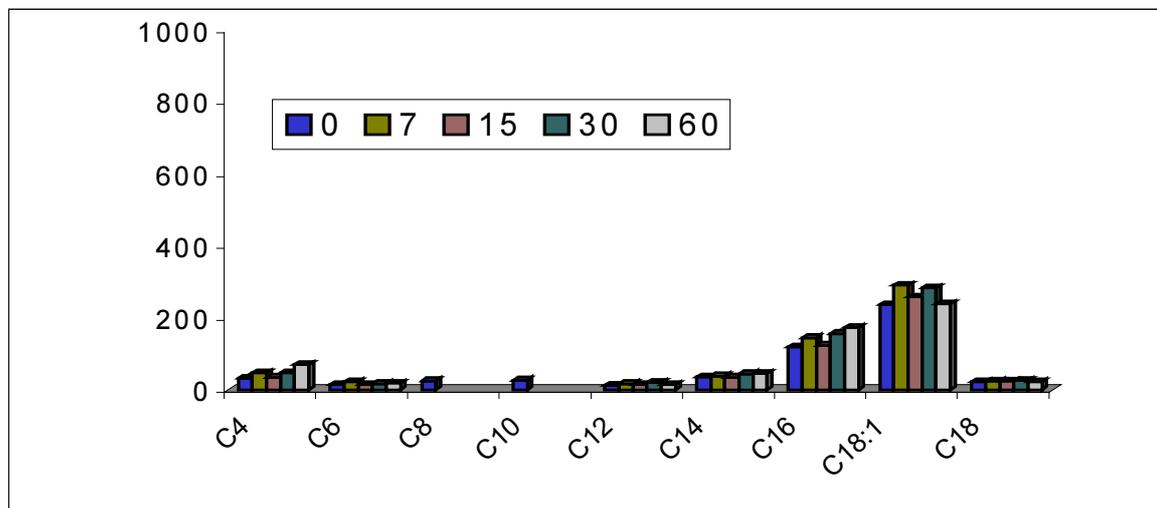


Figura 42 – Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote A1 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

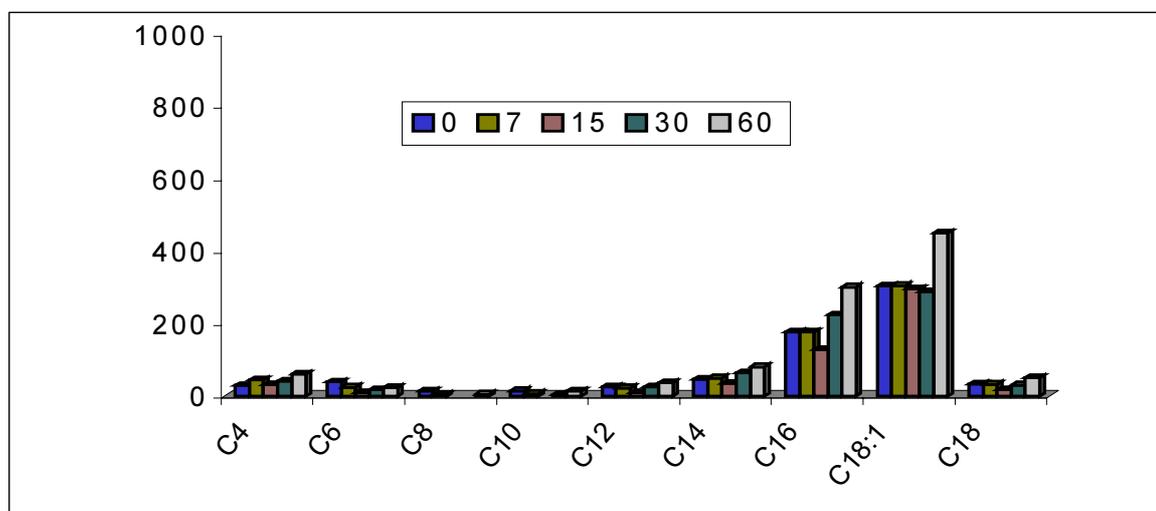


Figura 43 – Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote A2 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

El lote A3 mostró una cantidad de ácido butírico bastante importante, incrementándose de forma muy pronunciada a partir de los 15 días de maduración. El resto de los ácidos grasos no sufrieron cambios importantes durante la maduración.

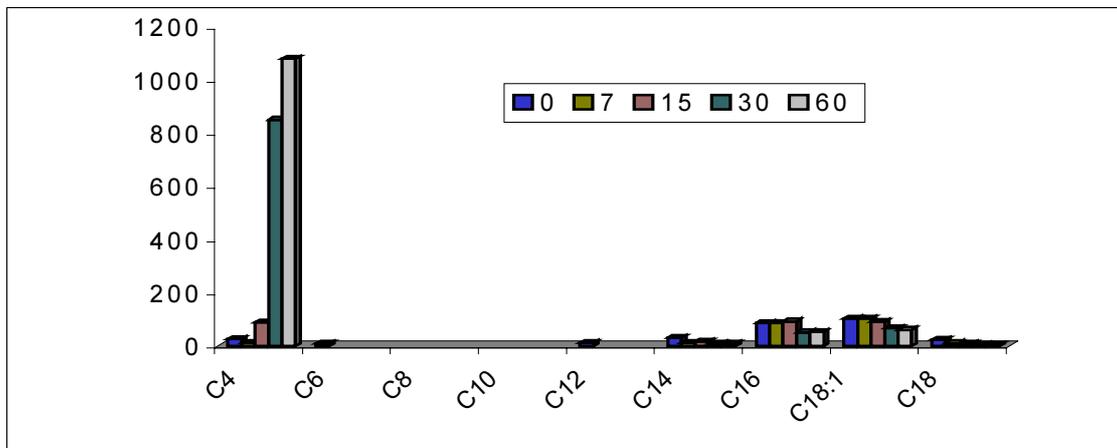


Figura 44 – Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote A3 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

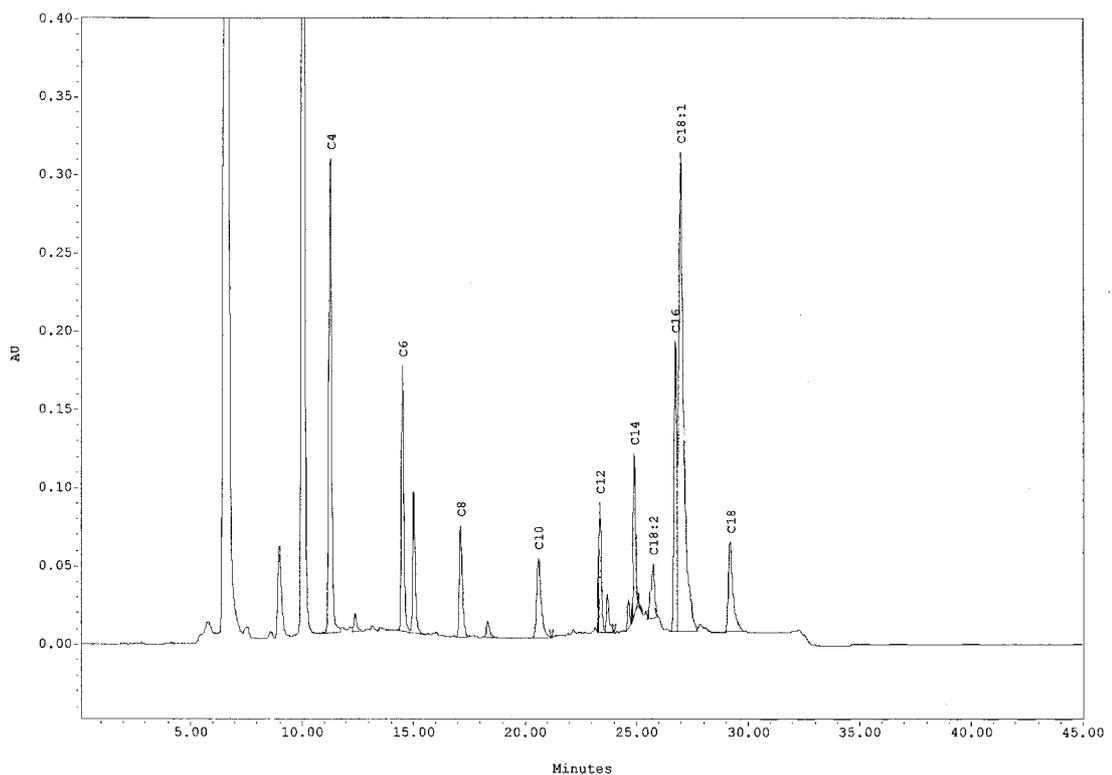


Figura 46 – Cromatograma representativo de los ácidos grasos libres del lote C₂ a los zero días de maduración.

III.2.2. – Evolución de los parámetros composicionales durante la maduración de los quesos industriales

Los seis lotes de quesos elaborados según se describe en el apartado II.2.2.1 (B₁, B₂, B₃, B₄, B₅ y B₆), se dejaron madurar en las diferentes queserías y se retiró un queso cada vez en los diferentes días de maduración (0, 7, 15, 30, 45 y 60) trasladando al laboratorio para su posterior análisis.

Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado.

III. 2.2.1. – Evolución del extracto seco de los quesos industriales a lo largo de la maduración

Los cambios sufridos por el contenido en materia seca durante la maduración se muestran en la Tabla XXV y en la Figura 47. El aumento progresivo experimentado por el contenido en extracto seco resultó significativo ($p < 0,05$) en la primera semana de maduración. Posteriormente, el extracto seco va aumentando, volviendo a resultar el incremento significativo a partir de los 45 días de maduración, alcanzando valores finales de $61,90\% \pm 2,12$.

Tabla XXV. – Evolución del contenido de extracto seco de los lotes industriales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
% ES	43,00±4,24 ^a	54,92±1,44 ^b	56,28±2,06 ^{bc}	58,74±2,00 ^c	60,47±1,69 ^{cd}	61,90±2,12 ^d

* Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes estudiados.

^{a-d} Valores con distinto superíndice resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

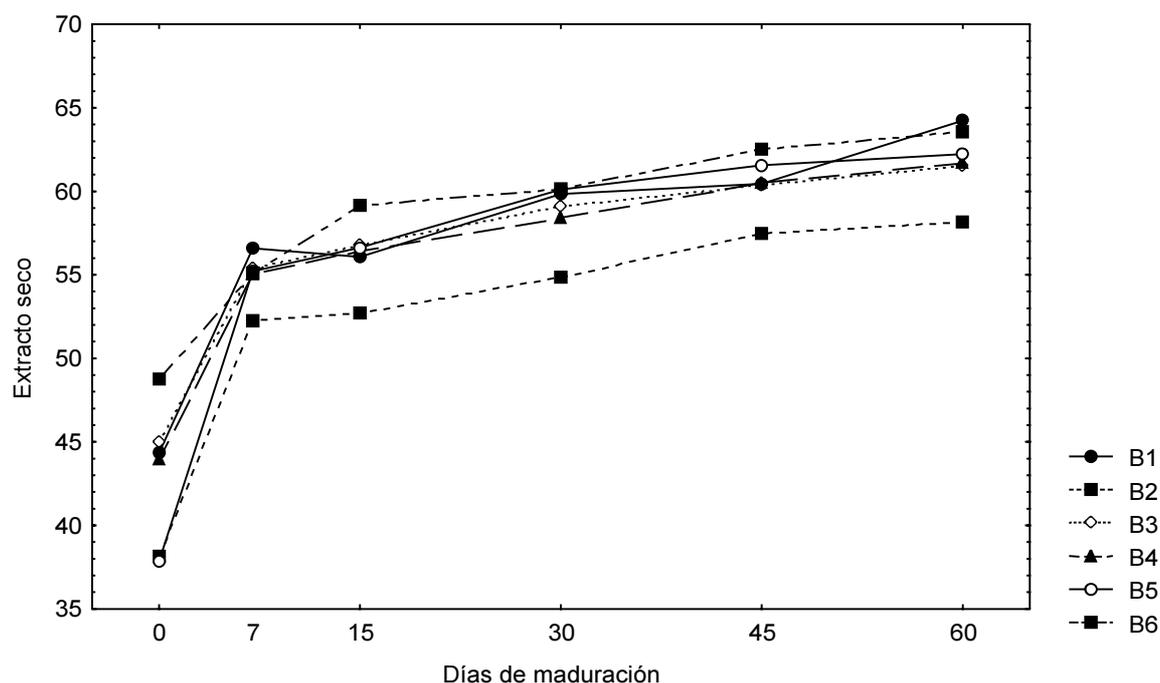


Figura 46 – Evolución del contenido de extracto seco de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

III.2.2.2. – Evolución del contenido de lactosa y ácidos D- y L- lácticos de los quesos industriales a lo largo de la maduración

Los cambios sufridos se reflejan en la tabla XXVI y en las figuras 48, 49 y 50.

Tabla XXVI. – Evolución del contenido en lactosa y ácidos D- y L-láctico (g/100 g ES)* de los quesos industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7 **	15 **	30 **	45	60
Lactosa	3,12±0,83	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
D- láctico	0,03±0,03 ^a	0,03±0,04 ^a	0,20±0,18 ^b	0,58±0,38 ^b	0,89±0,53 ^b	0,93±0,45 ^b
L- láctico	1,34±0,73 ^a	3,01±1,27 ^b	3,06±1,08 ^b	2,59±1,39 ^b	2,26±1,09 ^a	1,87±0,57 ^a

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los seis lotes

** Se han excluido los valores para el lote B1, por ser el único que presentaba lactosa.

N.D.: No detectada.

^{a-b} Valores con distinto superíndice a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$)

El contenido de lactosa en las cuajadas, que osciló entre 4,06 y 2,25 g/100 g ES se hizo indetectable al cabo de los 30 días para uno de los lotes de queso estudiado, pero en el resto de los quesos, la lactosa se transformó de forma muy rápida, de tal forma que no aparecía ya al cabo de la primera semana de maduración.

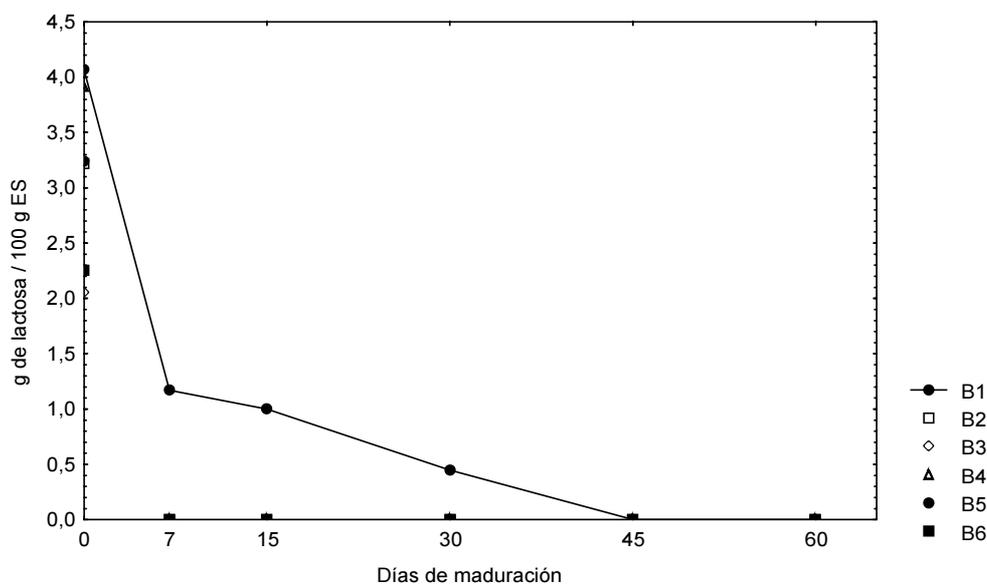


Figura 47 - Evolución del contenido de lactosa de los lotes industriales a largo de la maduración.

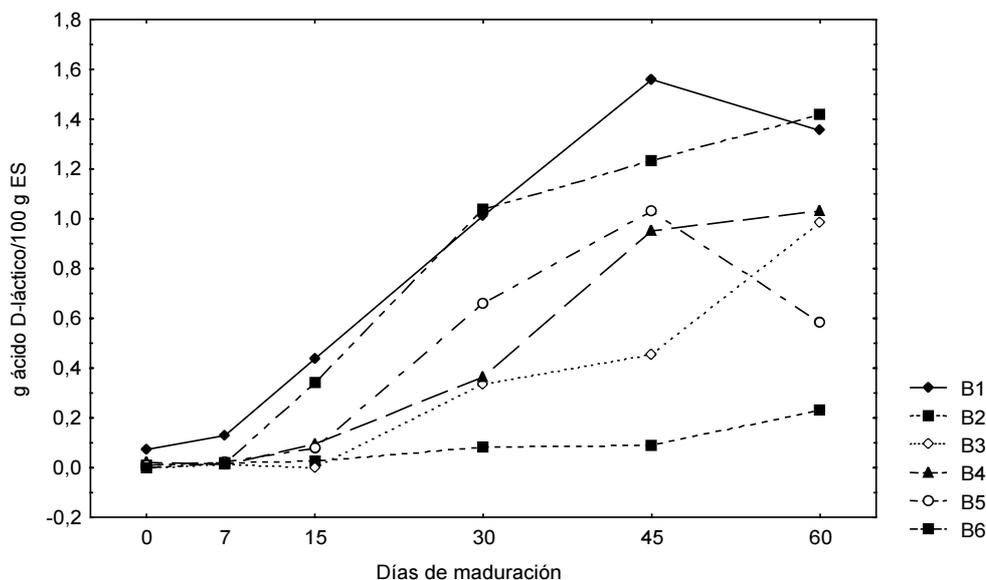


Figura 48 - Evolución del contenido de ácido D-láctico de los lotes industriales a largo de la maduración.

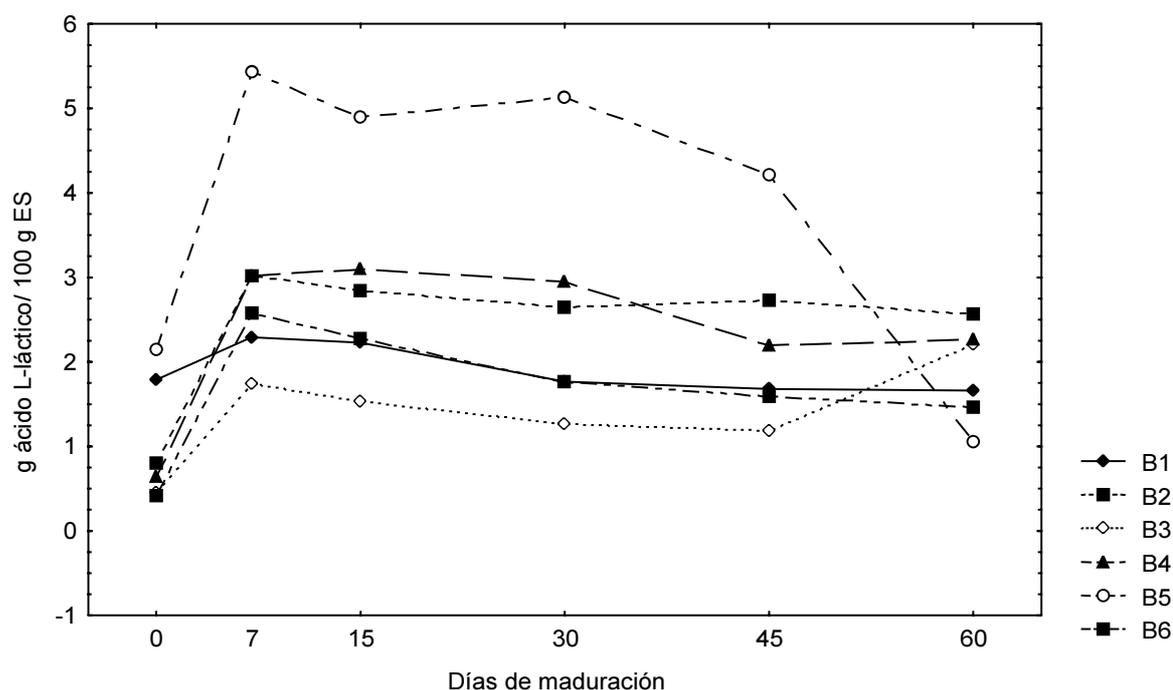


Figura 49 - Evolución del contenido de ácidos L-láctico de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

Aunque existieron grandes diferencias en la evolución de los ácidos D y L-láctico en los seis lotes estudiados, los datos medios indicaron que el contenido en ácido L-láctico fue más elevado que el D-láctico desde el comienzo de la maduración descendiendo de forma significativa al cabo de 30 días, mientras que el D-láctico sufrió un gran incremento a partir de las primeras semanas. Posteriormente aumentó de forma progresiva a lo largo de la maduración, aunque las diferencias ya no fueron significativas a partir de los 15 días. Los valores medios finales de los ácidos D y L-láctico fueron de $0,93 \pm 0,45$ y $1,87 \pm 0,57$ g/100g de extracto seco, respectivamente.

III.2.2.3. – Evolución del contenido de cloruro sódico de los quesos industriales a lo largo de la maduración

La evolución del contenido de cloruro sódico, expresado como g/100 g de extracto seco, durante la maduración de los diferentes lotes de queso aparece reflejada en la figura 51 y en la Tabla XXVII los correspondientes valores medios hallados.

Tabla XXVII. – Evolución del contenido de NaCl de los quesos industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
NaCl (g/100g ES)*	0,24±0,07 ^a	2,25±0,35 ^b	2,69±0,67 ^b	2,82±0,65 ^b	2,69±0,51 ^b	2,84±0,61 ^b
NaCl(g/100gH ₂ O)*	0,37±0,15 ^a	5,15±0,74 ^b	6,15±0,74 ^{bc}	6,85±1,64 ^{bc}	6,81±1,25 ^c	7,49±1,92 ^c

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de 6 lotes.

^{a-c} Valores con distinto superíndice a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

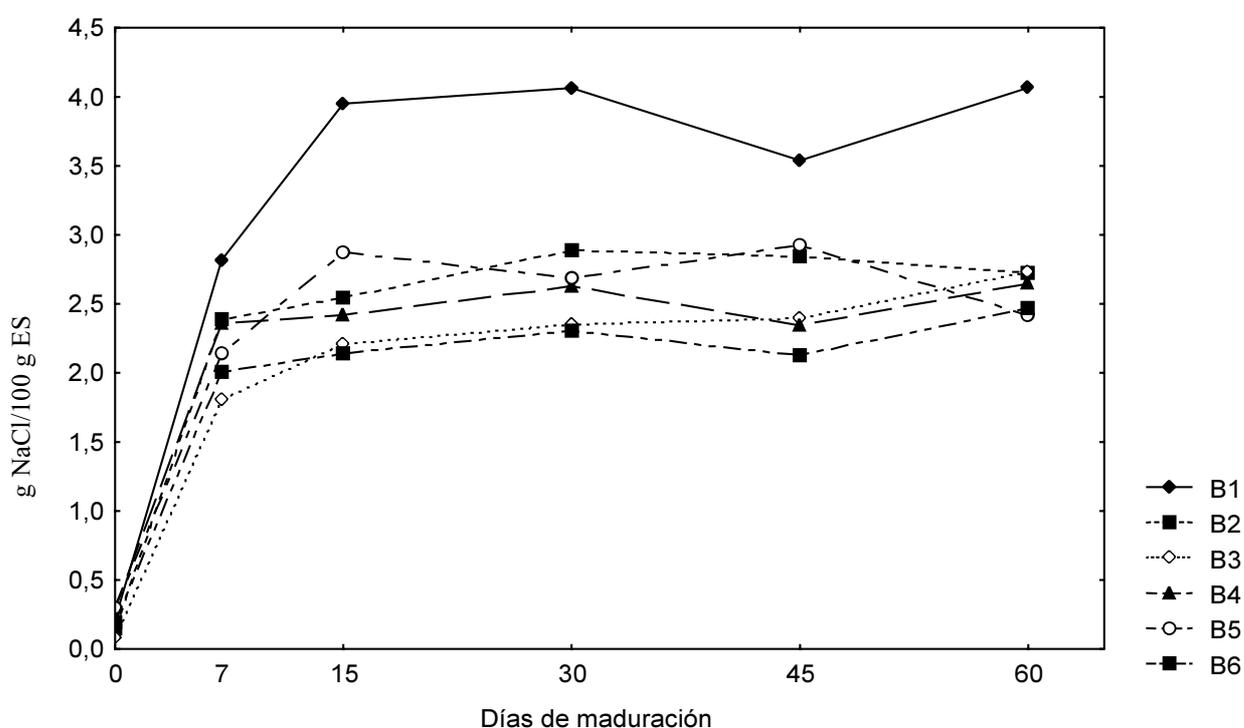


Figura 50 - Evolución del contenido de cloruro sódico (expresado en g NaCl/100 g ES) de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

El salado se realiza por inmersión en salmuera, alcanzando cifras de 2,25g/100g ES en los quesos de 7 días . A partir de este momento, la concentración de sal permaneció prácticamente constante hasta el final de la maduración, alcanzando valores de 2,84±0,61g de sal/100 g ES. El contenido en sal calculado como gramos de sal/100 g de agua va aumentando a lo largo de la maduración, a medida que lo hace el ES alcanzando valores finales de 7,49±1,92 g de sal/100 g de agua.

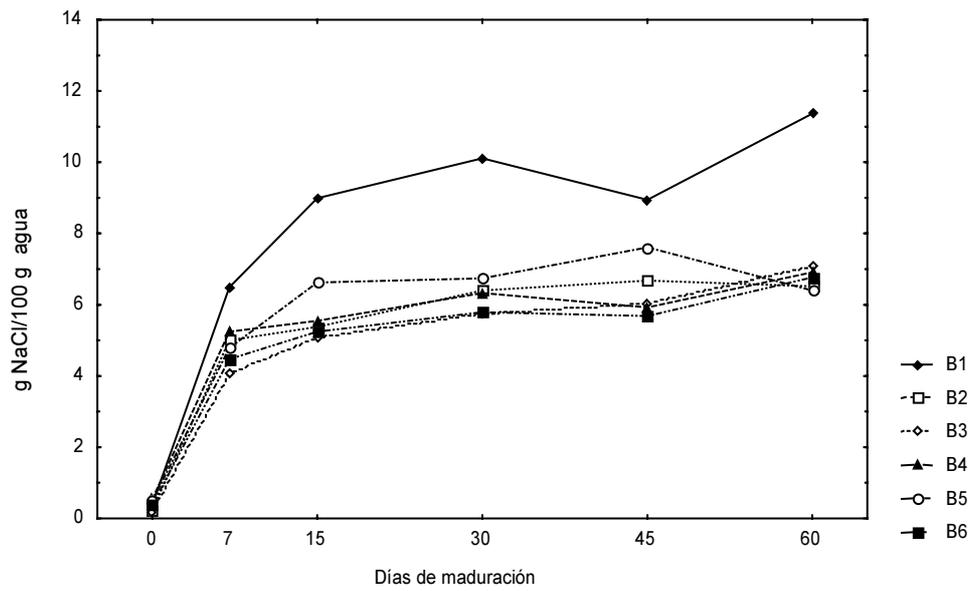


Figura 51 - Evolución del contenido de cloruro sódico (expresado en g NaCl/100 g agua) de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

III.2.2.4. – Evolución del contenido de elementos minerales de los quesos industriales a lo largo de la maduración

Los valores medios del contenido de los elementos minerales mayoritarios (Na, K, Ca, Mg y P) y minoritarios (Fe, Cu, Zn y Mn) de los quesos industriales a lo largo de la maduración aparecen reflejados en la Tabla XXVIII y en las figuras 53 y 54 se presentan los datos obtenidos para los diferentes quesos.

Tabla XXVIII. - Evolución del contenido en elementos minerales mayoritarios (g/Kg de ES)* y minoritarios (mg/Kg de ES)** de los lotes de quesos industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
Na*	1,22±0,38 ^a	8,83±1,50 ^b	10,78±2,60 ^{bc}	12,06±2,83 ^c	13,98±2,74 ^{cd}	15,25±3,22 ^d
Ca*	14,45±1,58 ^a	13,80±0,72 ^a	14,14±1,11 ^a	14,37±1,95	16,29±1,41	16,14±0,99
K*	2,05±0,61 ^a	2,04±0,53 ^a	1,83±0,27 ^a	2,09±0,42 ^a	2,29±0,52 ^a	2,39±0,50 ^a
Mg*	0,65±0,22 ^a	0,54±0,03 ^a	0,57±0,03 ^a	0,52±0,15 ^a	0,65±0,06 ^a	0,66±0,06 ^a
P*	10,25±4,22 ^a	8,32±0,36 ^a	8,57±0,64 ^a	8,04±2,53 ^a	9,72±0,85 ^a	9,91±0,45 ^a
Ca/P	1,65±0,05 ^a	1,66±0,05 ^a	1,65±0,04 ^a	1,67±0,34 ^a	1,68±0,11 ^a	1,63±0,06 ^a
Fe	2,21±0,26 ^a	1,65±0,22 ^a	2,01±0,47 ^a	1,85±0,38 ^a	2,09±0,67 ^a	1,62±0,53 ^a
Cu**	0,63±0,14 ^a	0,50±0,12 ^{ab}	0,50±0,11 ^b	0,59±0,13 ^a	0,44±0,12 ^a	0,49±0,10 ^a
Zn**	34,22±7,69 ^a	27,71±4,61 ^a	22,75±5,02 ^a	35,23±3,48 ^a	29,07±3,88 ^a	28,99±3,58 ^{ab}
Mn**	0,33±0,07 ^a	0,25±0,06	0,25±0,05	0,29±0,06	0,22±0,06 ^a	0,25±0,05 ^a

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

**Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

^{a-d} Valores con distinto superíndice para cada uno de los componentes minerales a lo largo de la maduración, fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

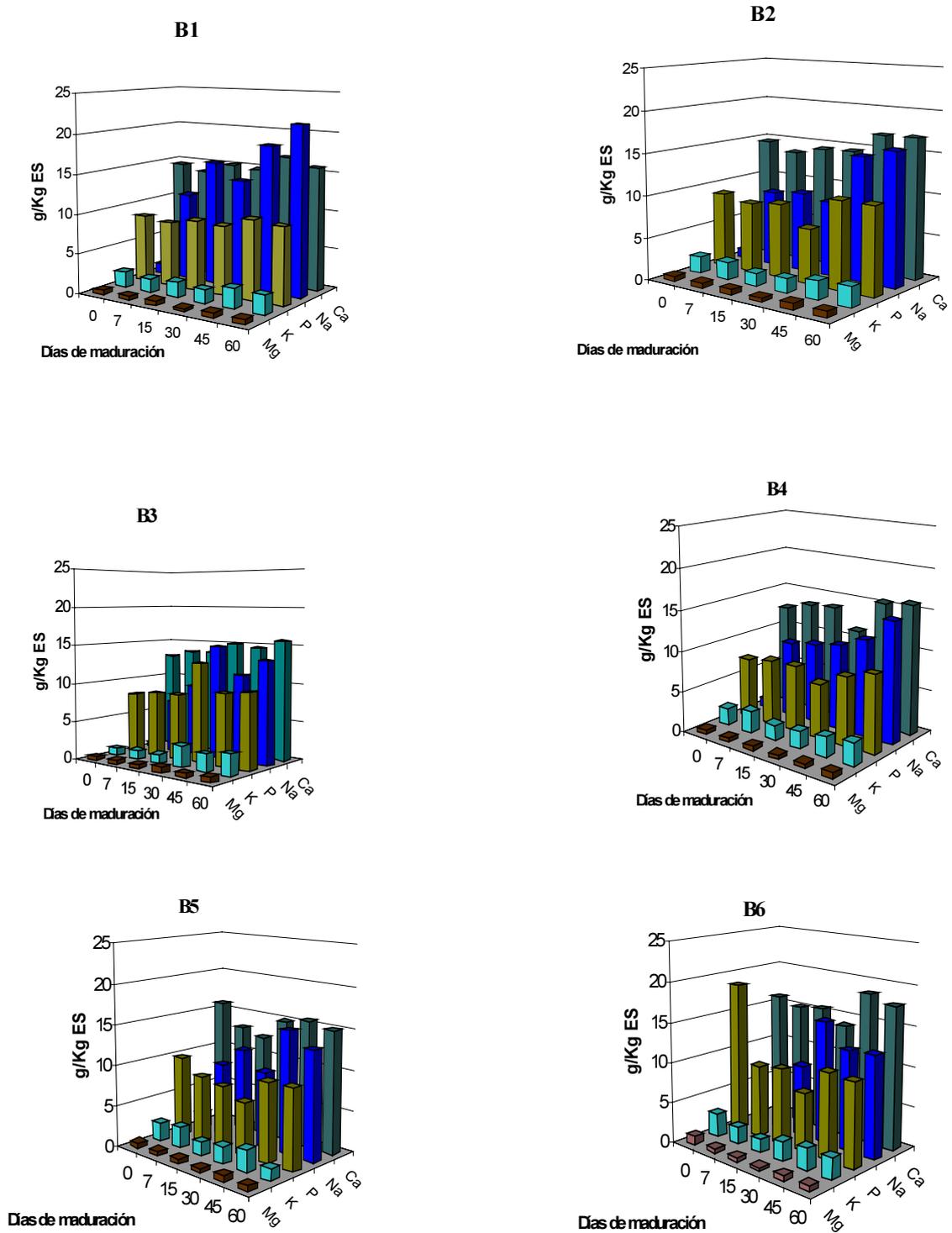


Figura 52 - Evolución de los elementos minerales mayoritarios en los lotes industriales a lo largo de la maduración.

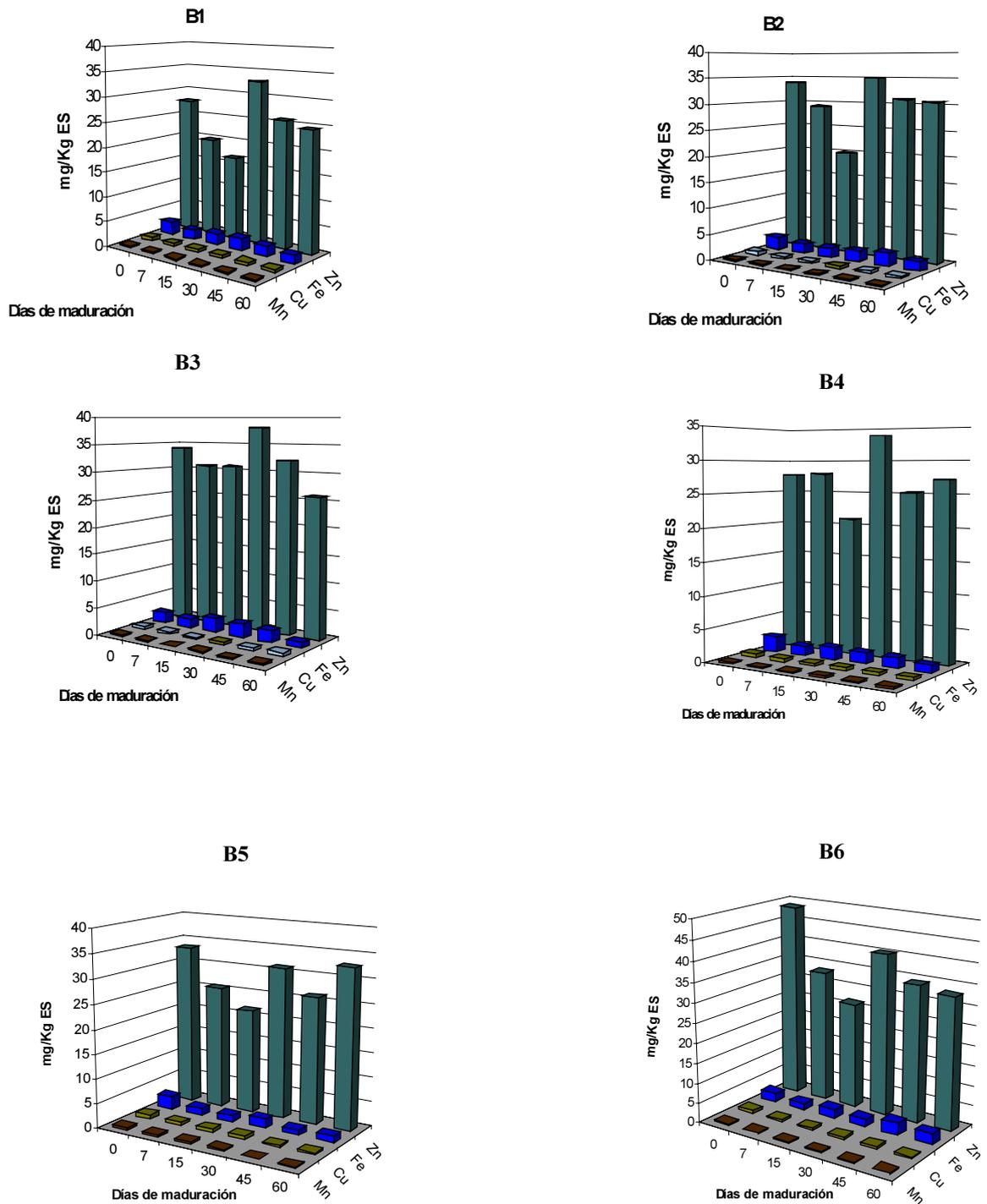


Figura 53 - Evolución de los elementos minerales minoritarios en los lotes industriales a lo largo de la maduración.

III.2.2.5. – Evolución del contenido de cenizas en los lotes industriales a lo largo de la maduración

La evolución del contenido en cenizas durante el proceso madurativo en los lotes industriales aparece reflejada en la Tabla XXXIX y en la figura 55 se presentan los datos obtenidos para los diferentes lotes estudiados.

Tabla XXXIX. - Evolución del contenido de cenizas (g/100 g ES) en los lotes industriales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
Cenizas	4,92±0,50 ^a	6,22±0,50 ^b	6,24±0,83 ^b	6,53±0,74 ^b	6,55±0,57 ^b	6,68±0,64 ^b

* Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

^{a-b} Valores con distinto superíndice en los diferentes días de maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Se observó un incremento del contenido de cenizas en los primeros 7 días, estabilizándose hasta el final de la maduración, alcanzándose un valor medio final de 6,68±0,64 g/100g de extracto seco.

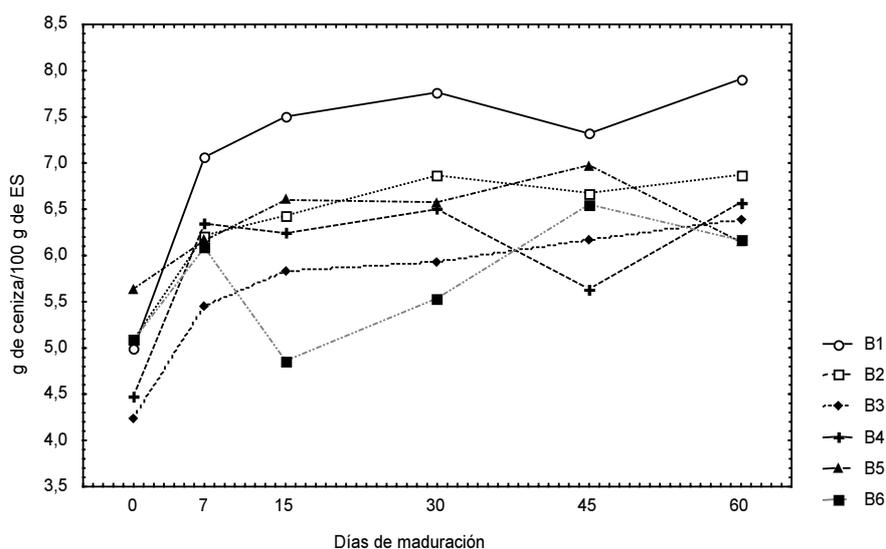


Figura 54 - Evolución del contenido de cenizas de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

III.2.2.6. - Evolución de los parámetros físico-químicos de los quesos industriales a lo largo de la maduración

III.2.2.6.1. – Evolución del pH de los quesos industriales a lo largo de la maduración

La evolución media del pH de los lotes industriales a lo largo de la maduración aparece reflejada en la Tabla XL y en la Figura 56 se representan los valores obtenidos para los diferentes lotes de queso

Tabla XL. - Evolución media del pH en los lotes industriales a lo largo de la maduración.

PH	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
	5,75±0,20 ^a	5,64±0,19 ^a	5,69±0,22 ^a	5,69±0,19 ^a	5,71±0,27 ^a	5,71±0,15 ^a

*Valores medios desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

^a Valores con el mismo superíndice a lo largo de la maduración no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$).

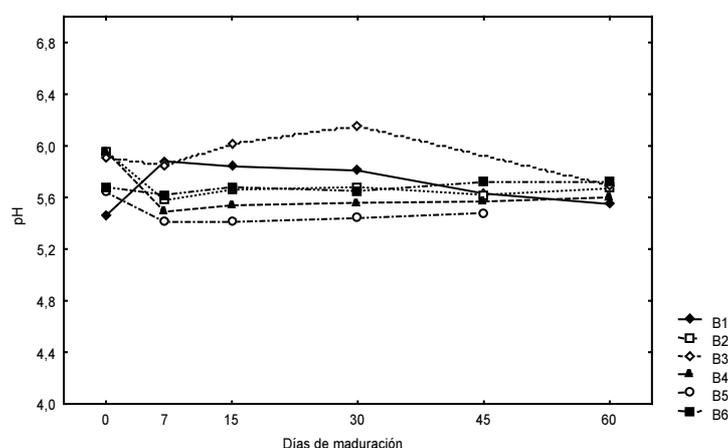


Figura 55 - Evolución del pH de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

El pH descendió ligeramente en los primeros siete días de maduración, aunque este descenso no resultó significativo. Es también de destacar que se mantuvo constante hasta el final de la maduración. El valor medio final alcanzado resultó ser de 5,71±0,15.

III.2.2.6.2. - Evolución de la acidez titulable de los quesos industriales a lo largo de la maduración

La evolución media de la acidez titulable de los lotes industriales a lo largo de la maduración aparece reflejada en la Tabla XLI y en la figura 57 los correspondientes datos para los diferentes lotes.

Tabla XLI. - Evolución media de la acidez titulable (g de ácido láctico / 100g ES) de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
AT *	0,73±0,40 ^a	1,48±0,32 ^b	1,46±0,26 ^b	1,54±0,28 ^b	1,52±0,29 ^b	1,52±0,30 ^b

* AT: Acidez titulable. Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

^{a-b} Valores con distinto superíndice resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

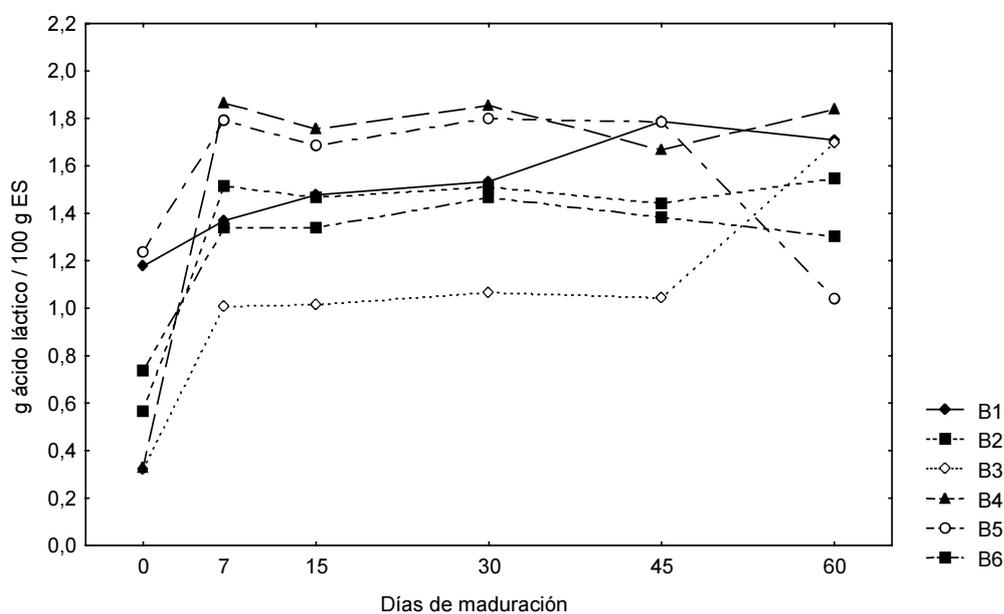


Figura 56 - Evolución de la acidez titulable (g de ácido láctico/100 g ES) en los lotes industriales a lo largo de la maduración.

III.2.2.6.3. – Evolución de la actividad del agua de los quesos industriales a lo largo de la maduración

La evolución de la actividad del agua en los lotes industriales a lo largo de la maduración aparece reflejada en la Tabla XLII y en la Figura 58 se representan los valores hallados para los quesos estudiados.

Tabla XLII. - Evolución media de la actividad del agua de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
a_w	$0,993 \pm 0,01^a$	$0,971 \pm 0,01^b$	$0,958 \pm 0,01^c$	$0,955 \pm 0,01^c$	$0,951 \pm 0,01^c$	$0,948 \pm 0,01^c$

* Valores medios \pm desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

^{a-c} Valores con distinto superíndice fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

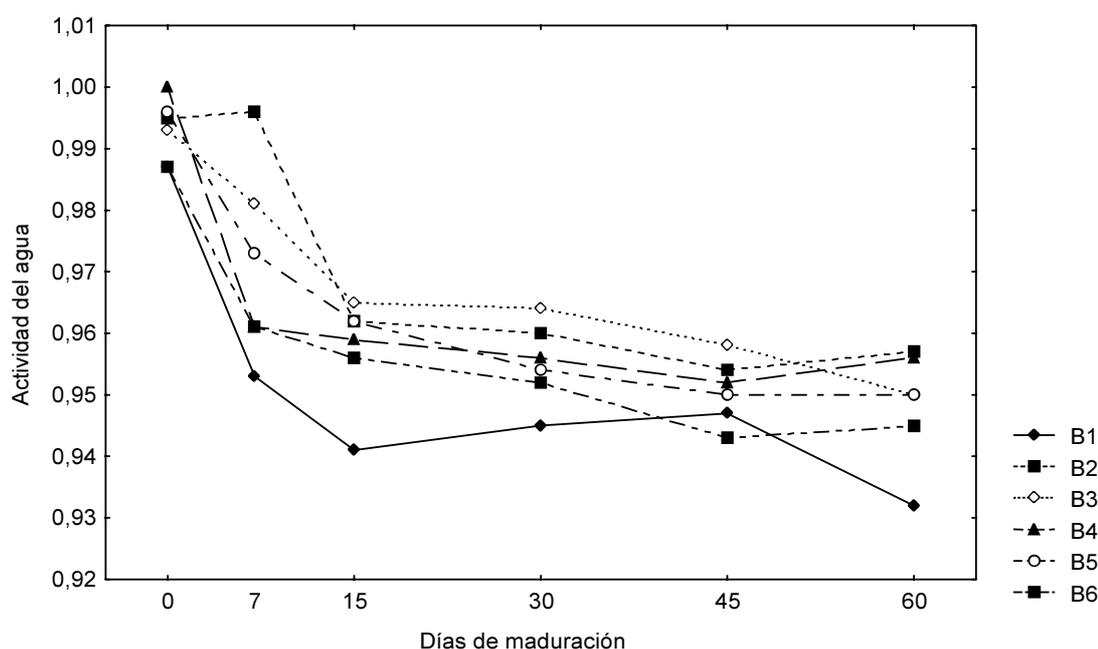


Figura 57 - Evolución de la actividad del agua de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

La a_w desciende progresivamente a lo largo de la maduración, resultando este descenso estadísticamente significativo en las primeras etapas del proceso.

III.2.2.7. - Evolución de los componentes nitrogenados durante la maduración de los quesos industriales

En este apartado se exponen los datos medios obtenidos sobre la evolución de las fracciones nitrogenadas, fracciones de la caseína y aminoácidos libres de los seis lotes de queso estudiados a lo largo de la maduración.

III.2.2.7.1. – Evolución de las fracciones y componentes nitrogenados de los quesos industriales a lo largo de la maduración

La evolución de las fracciones nitrogenadas y de los distintos componentes nitrogenados se muestran en las Tablas XLIII y XLIV y se representan gráficamente en las figuras 59-66.

Tabla XLIII. - Evolución de las distintas fracciones nitrogenadas (expresadas como % NT) de los lotes industriales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
NT	6,78±0,37 ^a	6,17±0,62 ^a	6,33±0,58 ^a	6,26±0,59 ^a	6,23±0,41 ^a	6,28±0,48 ^a
NST	5,13±0,89 ^a	7,39±2,03 ^{ab}	10,08±2,65 ^{bc}	13,75±3,69 ^c	18,39±3,81 ^d	21,72±5,33 ^d
NNP	1,84±0,74 ^a	3,03±1,36 ^{ab}	3,99±1,13 ^{ab}	5,53±1,95 ^b	7,75±3,40 ^{bc}	9,05±3,27 ^c
N-NH ₃	0,24±0,05 ^a	0,20±0,07 ^a	0,18±0,06 ^a	0,23±0,05 ^a	0,27±0,08 ^a	0,26±0,05 ^a
N-NH ₂	N.D.	0,31±0,10 ^a	1,01±0,37 ^b	1,58±0,31 ^b	2,32±0,43 ^c	2,76±0,45 ^d

NST: Nitrógeno soluble total; NNP: Nitrógeno no proteico; N-NH₃: Nitrógeno amoniacal; N-NH₂ = Nitrógeno amínico.

*Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

** NT expresado como g/100 g de ES.

^{a - d} Valores con distinto superíndice para cada una de las fracciones nitrogenadas a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

El nitrógeno soluble total (NST), cuyo porcentaje sobre NT se considera como índice de maduración, se incrementó significativamente ($p < 0,05$) durante todo el proceso madurativo alcanzando valores medios finales de $21,72 \pm 5,33$ g NST/100 g NT que indican que las reacciones proteolíticas son moderadas.

El nitrógeno no proteico (NNP) también se incrementó de forma continuada ($p < 0,05$), alcanzando valores medios finales de $9,05 \pm 3,27$ g NNP/100 g NT.

El nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$) se mantuvo estable durante toda la maduración, con un valor medio final de $0,26 \pm 0,05$ g $N-NH_3$ /100g NT. El nitrógeno amínico ($N-NH_2$) aumentó durante toda la maduración, siendo este incremento significativo ($p < 0,05$), a partir de los 7 y 30 días de maduración alcanzando al final de la misma, valores medios finales de $2,76 \pm 0,45$ g $N-NH_2$ /100 g NT.

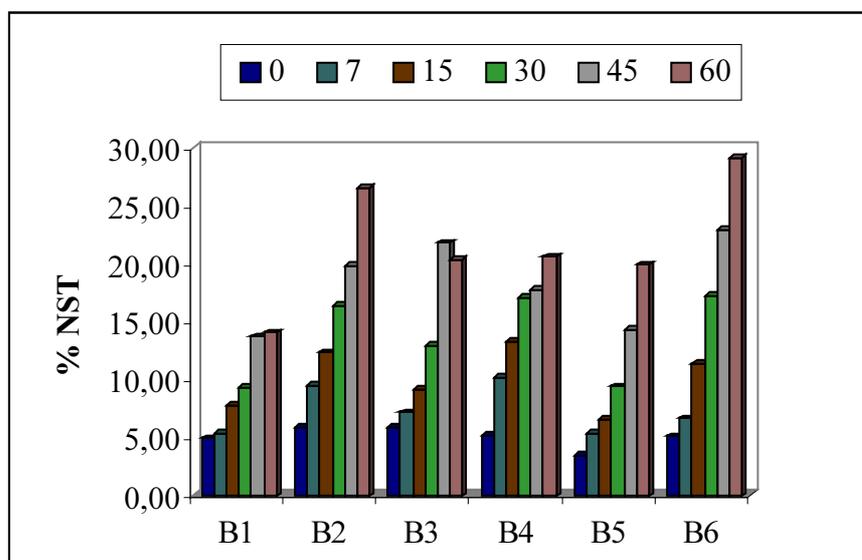


Figura 58 – Evolución del nitrógeno soluble total (%NST/NT) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

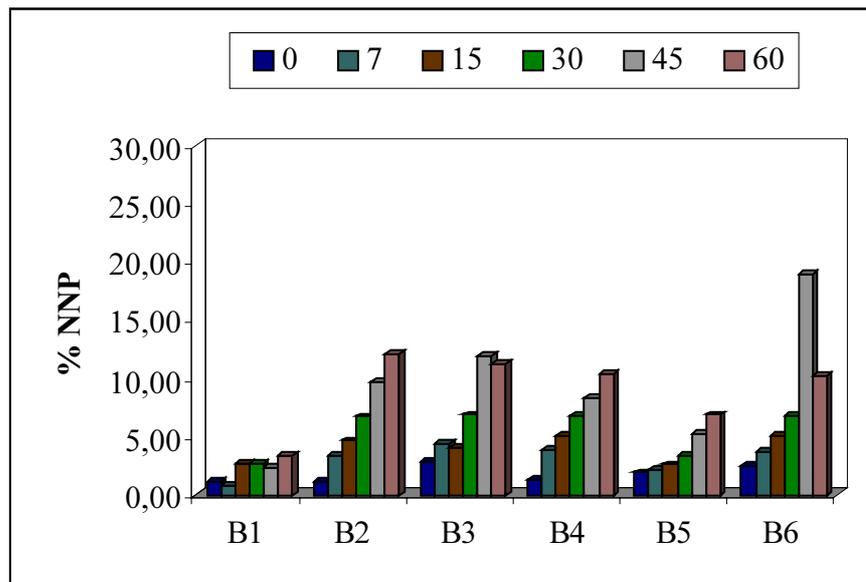


Figura 59 – Evolución del nitrógeno no proteico (%NNP/NT) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

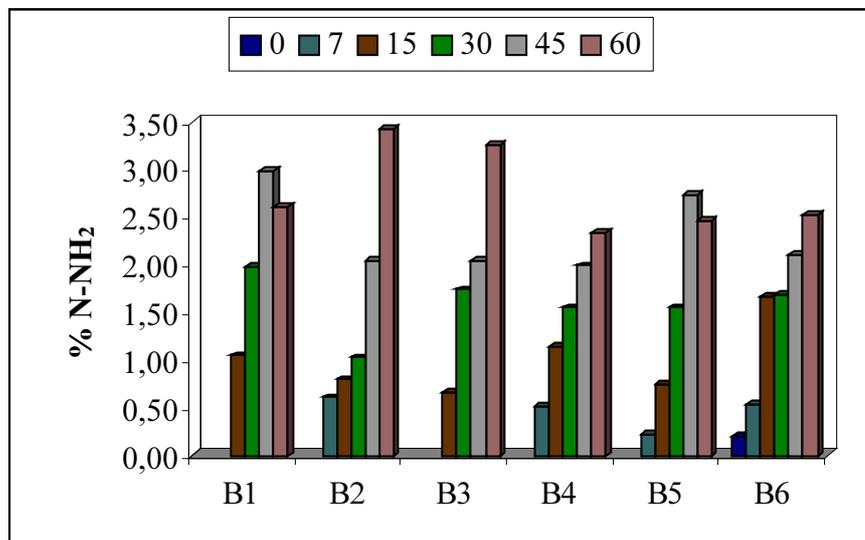


Figura 60 – Evolución del nitrógeno amínico (% N-NH₂) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

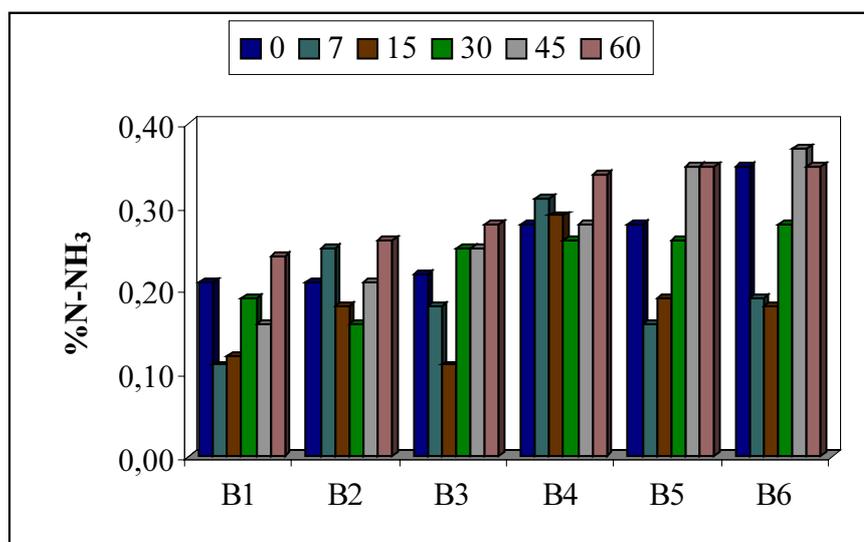


Figura 61 – Evolución del nitrógeno amoniacal (% N-NH₃) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

Tabla XLIV. - Evolución de los distintos componentes nitrogenados (expresados como % NT) de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
NP	98,13±0,74 ^a	96,96±1,34 ^{ab}	95,90±1,13 ^{ab}	94,46±1,95 ^{bc}	92,24±3,40 ^c	90,95±3,27 ^c
NC	95,27±0,88 ^a	93,00±2,03 ^{ab}	90,28±2,65 ^b	86,36±3,70 ^{bc}	82,59±3,81 ^c	78,67±5,32 ^c
Npp	2,86±1,11 ^a	4,35±1,54 ^{ab}	6,08±1,62 ^b	8,21±2,15 ^c	10,63±1,80 ^{cd}	12,67±3,60 ^d
Npept	1,54±0,64 ^a	2,52±0,91 ^{ab}	2,80±0,97 ^{ab}	3,21±1,66 ^b	6,34±2,82 ^c	6,68±2,54 ^c

NP: Nitrógeno proteico; NC: Nitrógeno caseínico; Npp: Nitrógeno proteosa-peptona; Npept: Nitrógeno peptídico.

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

^{a - d} Valores con distinto superíndice para cada componente fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

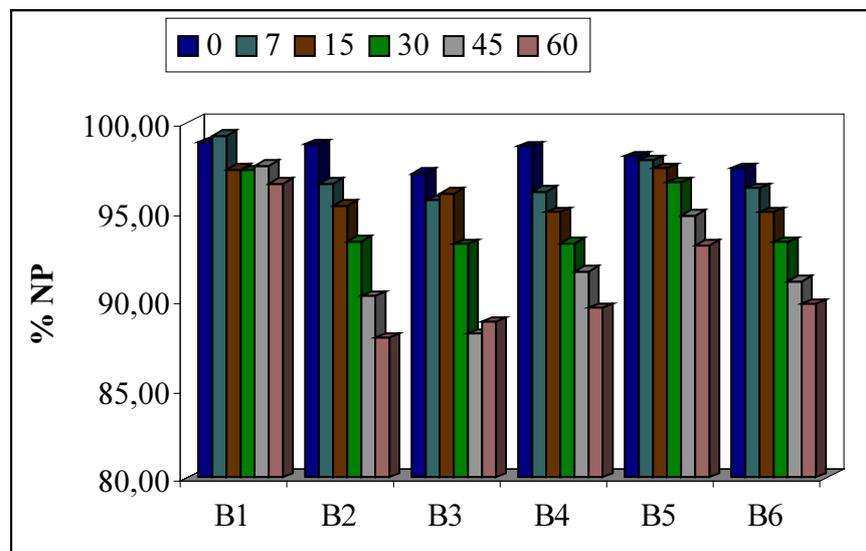


Figura 62 - Evolución del nitrógeno proteico (NP) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

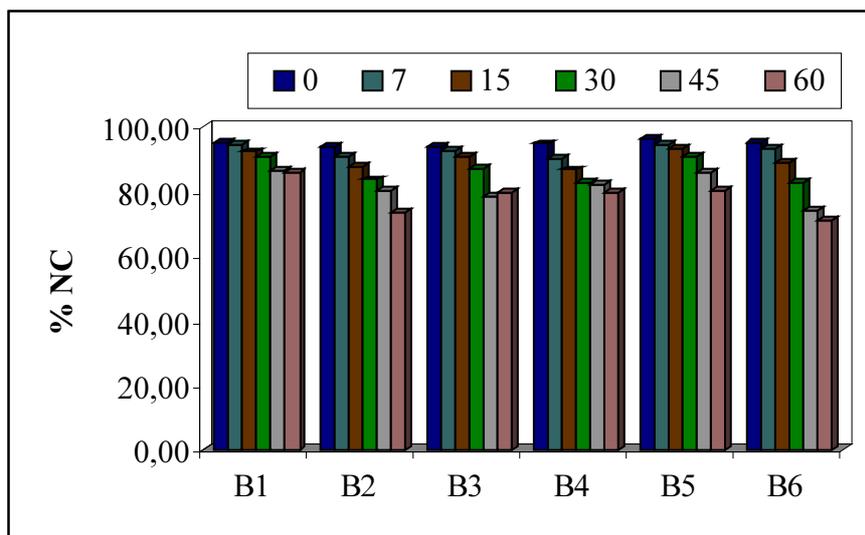


Figura 63 - Evolución del nitrógeno caseínico (NC) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

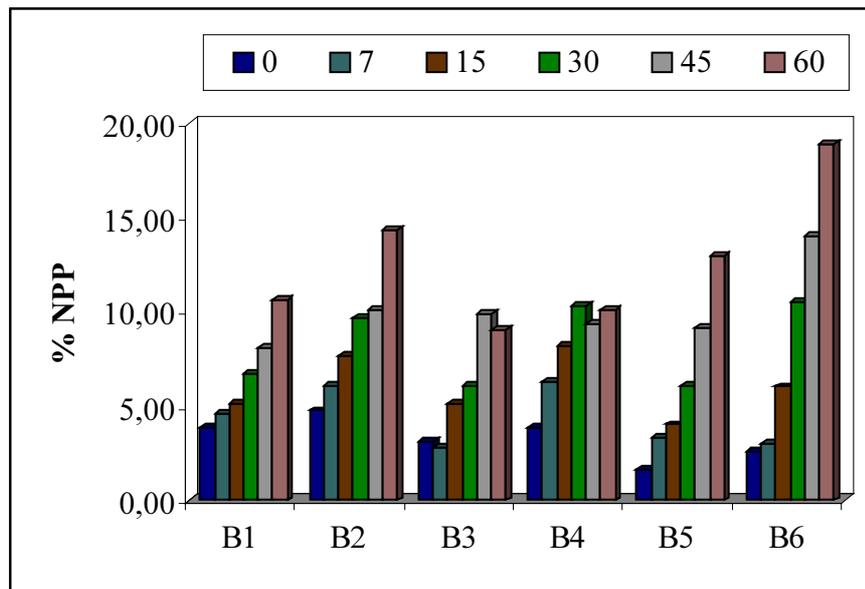


Figura 64 - Evolución del nitrógeno proteosa-peptona (Npp) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

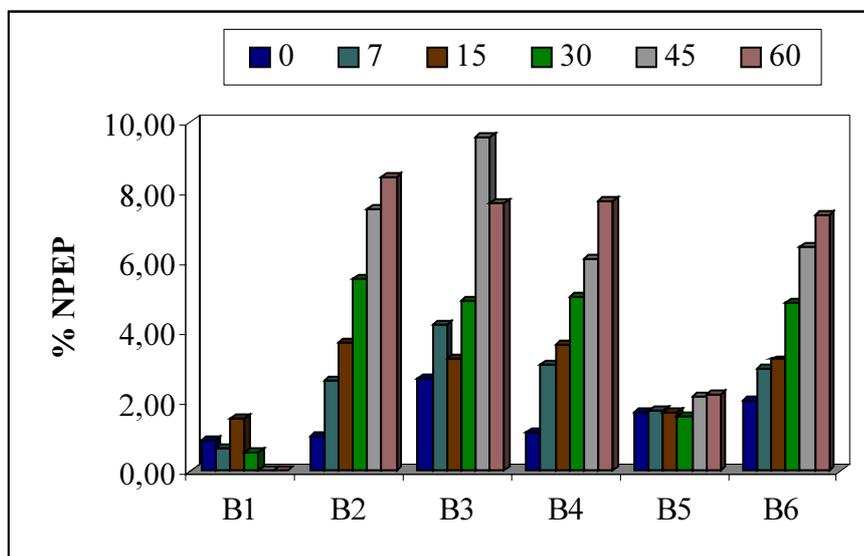


Figura 65 - Evolución del nitrógeno peptídico (Npep) durante la maduración en el queso San Simón fabricado de forma industrial.

III.2.2.7.2. – Evolución de las caseínas y sus productos de degradación a lo largo de maduración en el queso San Simón da Costa fabricado de forma industrial

En la Figura 67 se presenta uno de los electroferogramas obtenidos en el estudio de la evolución de las diferentes fracciones de caseína a lo largo de la maduración de los 6 lotes estudiados, concretamente el que corresponde al lote B3. Los valores medios de las proporciones relativas de las caseínas α_s -, β -, γ -pre- α_s , expresadas como porcentaje de la densidad óptica total, a lo largo de la maduración se recogen en la Tabla XLV.

Tabla XLV. – Valores medios de las proporciones relativas de caseína (porcentaje de la densidad óptica total) de los lotes industriales. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
γ -CN	8,94±2,37 ^a	10,36±2,32 ^{ab}	10,26±2,87 ^{ab}	13,54±2,62 ^{bc}	14,20±1,93 ^{bc}	17,11±4,80 ^c
β -CN	27,36±3,92 ^a	24,91±3,58 ^a	23,96±3,15 ^a	21,52±3,43 ^{ab}	21,74±3,14 ^{ab}	19,27±3,04 ^b
O.D.	⁴ 4,53±2,75	⁴ 5,56±2,24	⁴ 6,52±2,80	5,28±1,90	4,73±2,35	4,91±3,33
α_{s1} -CN	43,64±4,40 ^a	32,19±5,25 ^b	27,27±4,87 ^c	21,03±1,96 ^d	19,31±1,91 ^d	18,00±3,01 ^d
O.D.	¹ 6,07±1,29	² 4,53±0,69	² 5,14±0,41	³ 6,22±0,98	³ 6,60±0,97	³ 6,49±1,84
α_{s1-1} -CN	3,76±2,02 ^a	16,00±3,83 ^b	19,55±3,39 ^b	19,18±4,70 ^b	18,99±5,54 ^b	18,61±5,20 ^b
Pre- α_{s1} -CN	10,51±2,11 ^a	9,50±2,52 ^a	10,95±3,33 ^{ab}	15,30±3,95 ^{bc}	16,02±4,04 ^c	17,76±3,52 ^c
α/β	1,62±0,25 ^a	1,30±0,19 ^b	1,14±0,18 ^{bc}	0,99±0,10 ^c	0,90±0,10 ^c	1,00±0,12 ^c

* Valores \pm desviación estandar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes de quesos.

O.D. Origen desconocido.

^{a-d} Valores con distinto superíndice para cada una de las distintas fracciones a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$)

¹ No aparece en los lotes β_1 , β_2 , β_3 y β_6

² No aparece en los lotes β_1 , β_2 , y β_3

³ No aparece en los lotes β_1 , y β_2

⁴ No aparece en los lotes β_2

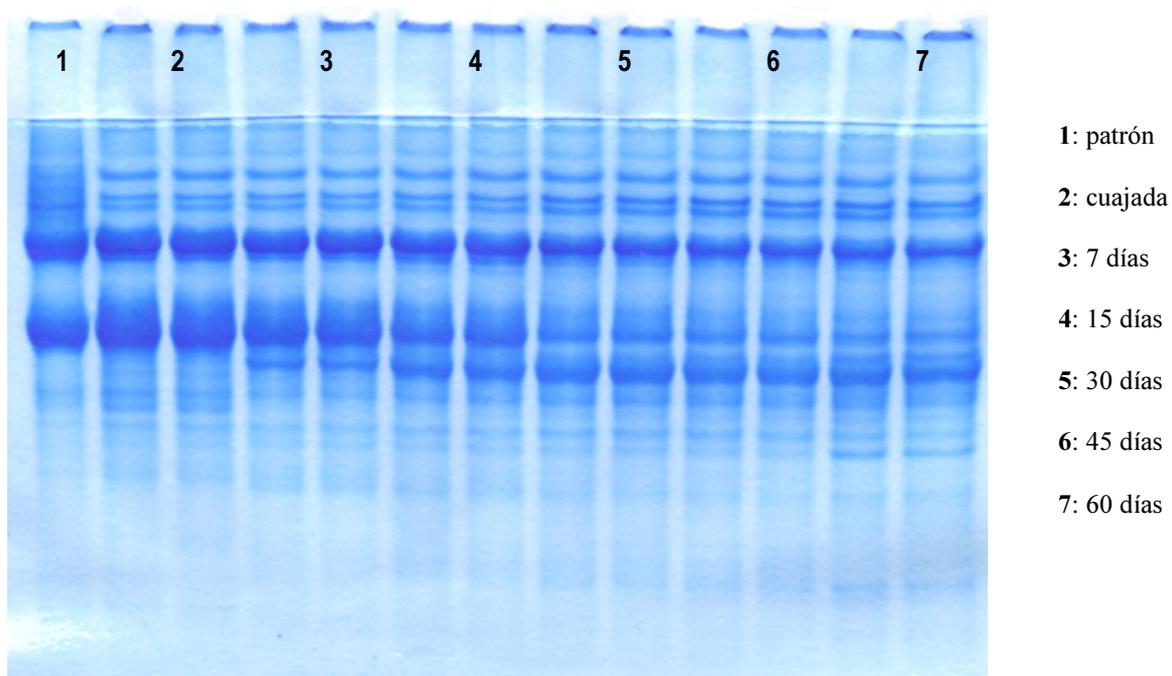


Figura 66 a - Electroforetograma de las caseínas y sus productos de degradación en una partida de queso de San Simón elaborado industrialmente.

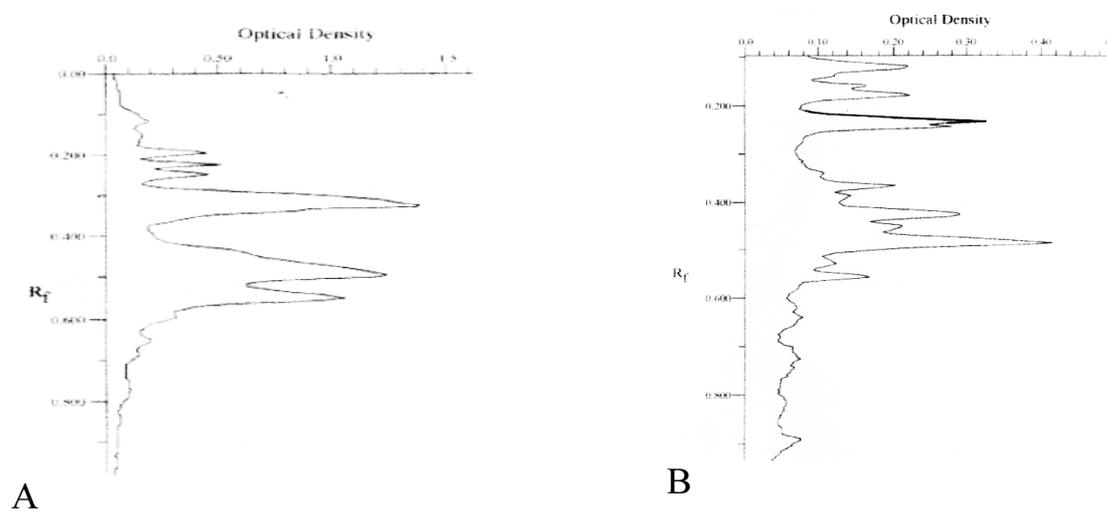


Figura 66 b - Densitogramas de las caseínas y sus productos de degradación en la cuajada (A) y en queso de 60 días de maduración (B) del lote representado en la figura 66 a.

III.2.2.7.3. – Evolución de los aminoácidos libres de los quesos industriales a lo largo de la maduración

Los cambios en el contenido en aminoácidos libres en los quesos industriales, se encuentran expresados en la Tabla XLVI y en las Figuras 68-73. En la Figura 74, se incluye uno de los cromatogramas correspondientes a los quesos de 60 días de maduración de uno de los lotes, y en la Figura 75 se muestra la evolución media de los aminoácidos libres mayoritarios.

Observándose la evolución de los aminoácidos libres durante todo el proceso madurativo se puede decir que en las cuajadas, aunque en general presentan un bajo contenido de todos ellos, predominan el ácido aspártico y el ácido glutámico, además de la prolina, siendo el ácido glutámico el aminoácido mayoritario al final del proceso madurativo.

En los distintos períodos del proceso madurativo aumentaron de forma significativa prácticamente todos los aminoácidos, aunque se apreciaron diferencias notables en las diferentes partidas. La mezcla GABA/TAU permaneció constante durante todo el periodo del proceso madurativo.

En los quesos madurados, los aminoácidos mayoritarios resultaron ser el glutámico, el triptófano, la leucina y la anserina, seguidos de la glutamina, la arginina, la fenilalanina y la lisina. En conjunto, estos 8 aminoácidos representaron el 75% del total de aminoácidos presentes. Es de destacar que el ácido glutámico supone el 21% del total.

El contenido global de aminoácidos libres aumentó de valores iniciales de $26,23 \pm 14,00$ hasta $1286,54 \pm 510,28$ mg/100 g de ES, al final de la maduración.

Tabla XLVI. - Evolución media de los aminoácidos libres (mg/ 100g de ES) en los lotes industriales a lo largo de la maduración. *

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
ASP	¹ 11,55±6,70 ^a	17,52±19,43 ^a	17,39±2,90 ^{ab}	24,84±4,16 ^b	40,57±5,30 ^c	49,87±9,99 ^c
GLU	² 7,64±4,50 ^a	57,06±17,70 ^a	75,00±25,16 ^a	139,35±49,53 ^{ab}	256,72±88,06 ^{bc}	274,10±90,47 ^c
ANS	N.D.	13,99±7,36 ^a	27,99±15,37 ^a	65,36±24,77 ^b	115,18±50,18 ^c	114,63±34,71 ^c
SER	³ 1,14	6,52±1,60 ^a	9,03±2,84 ^{ab}	17,86±6,53 ^b	28,82±15,26 ^c	30,01±10,27 ^c
GLN	³ 2,56	13,30±3,13 ^a	19,36±7,40 ^a	35,36±25,28 ^{ab}	79,56±32,43 ^b	86,99±35,88 ^b
GLY	⁴ 1,63±0,26	5,24±1,62 ^a	7,43±2,38 ^{ab}	17,63±6,93 ^b	32,18±13,94 ^{cd}	35,99±18,49 ^d
HIS	² 1,04±0,14	4,81±0,99 ^{ab}	6,79±2,05 ^{ab}	11,07±3,48 ^b	12,88±3,89 ^b	10,86±3,37 ^b
GABA/TAU*	0,40±0,16 ^a	1,06±1,07 ^a	1,40±0,88 ^a	2,65±1,00 ^a	3,12±1,15 ^a	2,80±0,68 ^a
ARG	N.D.	6,24±4,05 ^a	14,87±8,39 ^a	37,61±17,41 ^a	64,86±31,63 ^a	85,53±102,18 ^a
THR	¹ 1,27±1,03	6,61±6,96 ^a	5,00±1,84 ^a	11,13±5,22 ^a	23,68±12,11 ^b	25,97±10,57 ^b
ALA	2,95±3,04 ^a	6,16±1,81 ^a	8,21±1,46 ^a	12,94±4,70 ^a	20,62±5,38 ^a	22,05±10,79 ^a
PRO	4,37±3,92 ^a	12,28±4,80 ^{ab}	12,17±6,41 ^a	25,79±13,02 ^{ab}	38,64±14,79 ^{ab}	43,26±29,35 ^b
TYR	0,94±0,22 ^a	8,36±2,52 ^a	8,96±3,91 ^a	14,97±8,97 ^a	19,20±13,62 ^a	17,14±9,81 ^a
VAL	0,49±0,27 ^a	4,57±2,04 ^a	8,74±3,77 ^a	23,47±11,96 ^a	40,29±19,49 ^a	43,11±22,81 ^a
MET	N.D.	1,61±1,33 ^a	2,73±1,63 ^a	8,43±5,6 ^a	10,50±7,85 ^a	17,00±12,17 ^a
CYS	N.D.	⁶ 6,64±9,50	⁷ 25,94±4,44	N.D.	N.D.	N.D.
ILE	0,65±0,57 ^a	6,51±9,52 ^a	4,00±2,51 ^a	9,85±4,69 ^a	16,71±7,73 ^a	17,81±9,96 ^a
LEU	0,45±0,39 ^a	14,54±4,44 ^a	28,96±12,25 ^a	78,42±35,08 ^a	126,83±50,06 ^a	133,22±58,25 ^a
PHE	1,83±0,68 ^a	14,35±6,32 ^a	23,23±10,16 ^a	52,63±20,43 ^a	78,98±24,53 ^a	64,37±40,75 ^a
TRP	2,27±2,47 ^a	25,66±9,92 ^{ab}	43,85±17,20 ^{ab}	87,72±35,28 ^{bc}	142,95±53,54 ^{cd}	147,66±71,16 ^d
LYS	2,82±2,41 ^a	21,82±12,45 ^a	24,61±12,12 ^a	39,24±15,36 ^a	62,27±26,18 ^a	66,17±21,703 ^a
TOTALES	26,23±14,00	285,61±107,06	357,50±117,61	716,54±250,80	1214,58±423,30	1286,54±510,28

ASP: Ácido aspártico; GLU: Ácido glutámico; ANS: Asparragina; SER: Serina; GLN: Glutamina; GLY: Glycina; HIS: Histidina; GABA/TAU: Gaba/Taurina; ARG: Arginina; THR: Treonina; ALA: Alanina; PRO: Prolina; TYR: Tirosina; VAL: Valina; MET: Metionina; ILE: Isoleucina; LEU: Leucina; PHE: Fenilalanina; TRP: Triptófano; LYS: Lisina.

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 3 lotes.

¹ Sólo detectada en los lotes B2 y B5.

² Sólo detectada en los lotes B2 y B6.

³ Sólo detectada en el lote B6.

⁴ Sólo detectada en los lotes B4 y B5.

⁵ Sólo detectada en el lote B5.

⁶ Sólo detectada en los lotes B3, B5 y B6.

⁷ Sólo detectada en los lotes B3 y B5.

N.D.: No detectado.

^{a-d} Valores con distinto superíndice para cada uno de los aminoácidos fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

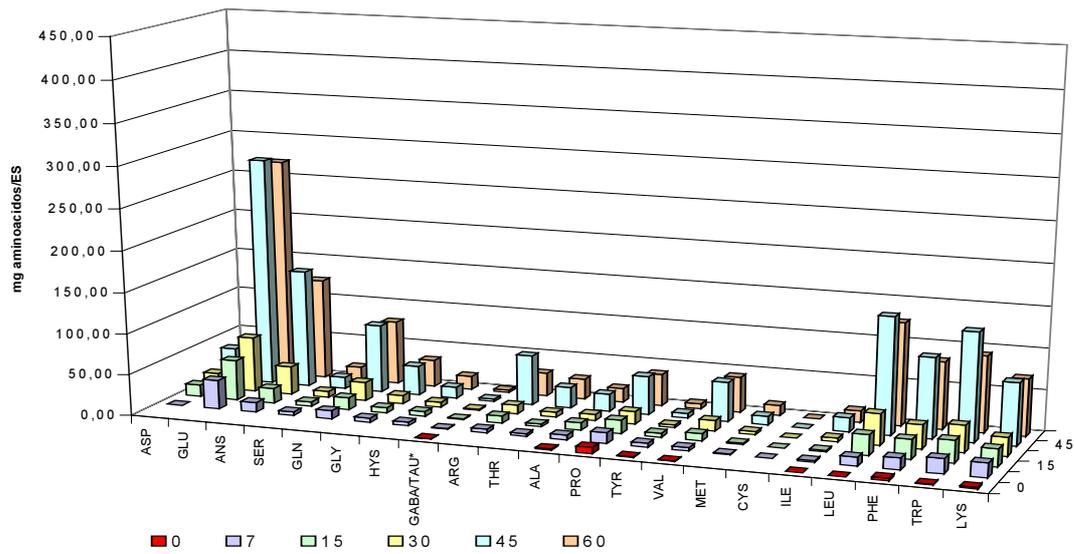


Figura 67 – Evolución de los aminoácidos libres del lote B1 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

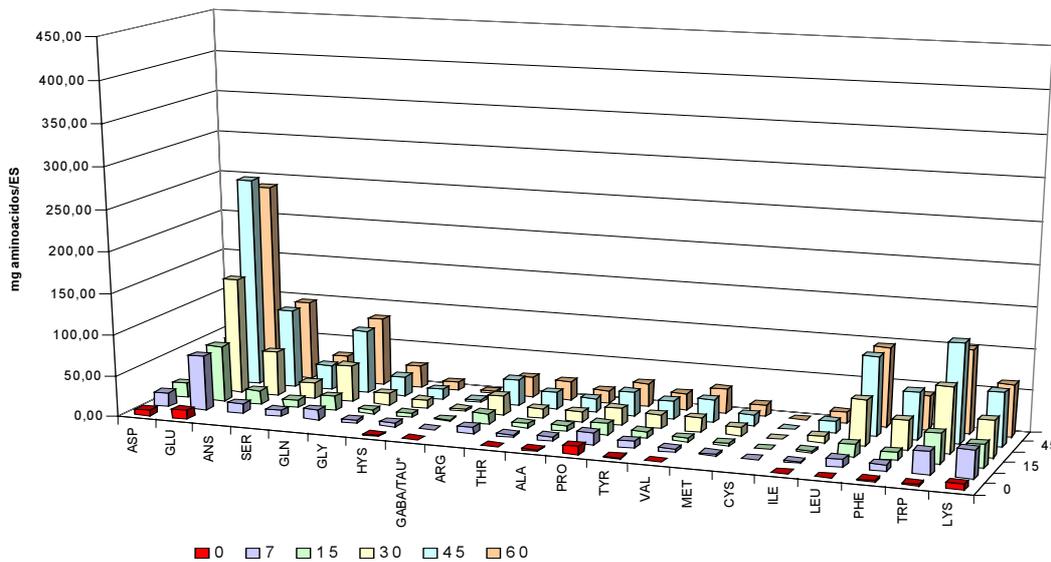


Figura 68 – Evolución de los aminoácidos libres del lote B2 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

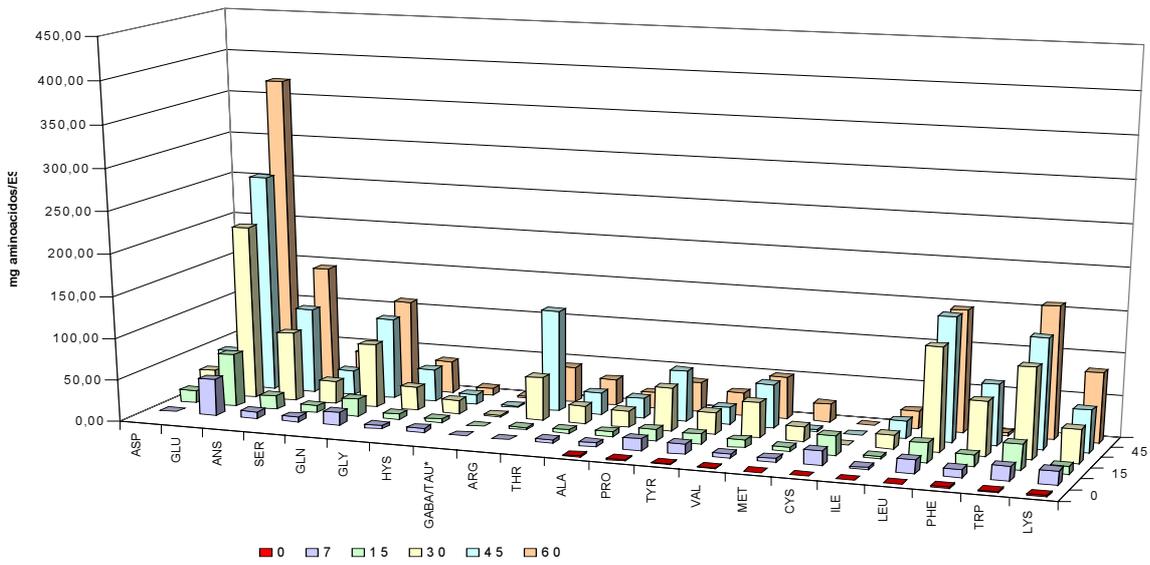


Figura 69 – Evolución de los aminoácidos libres del lote B3 del queso San Simón a lo largo de la maduración

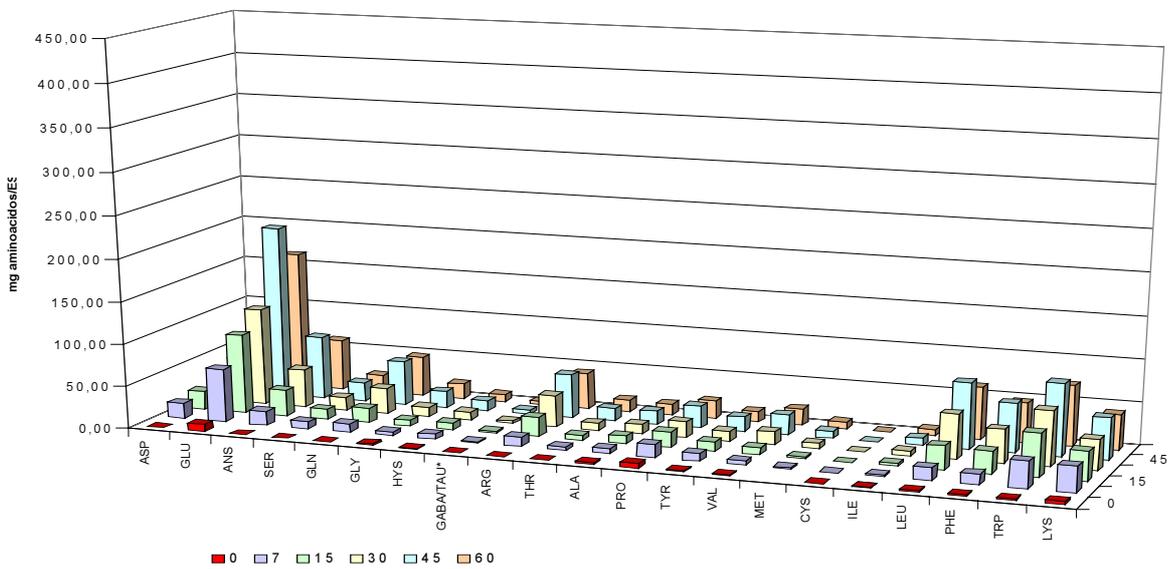


Figura 70 – Evolución de los aminoácidos libres del lote B4 del queso San Simón a lo largo de la maduración

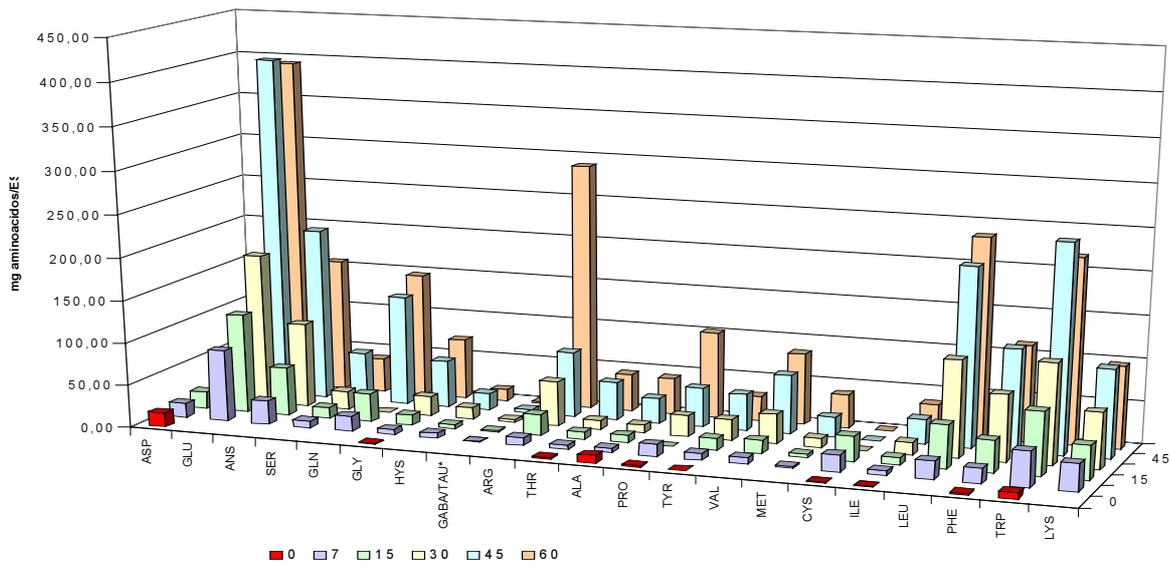


Figura 71 – Evolución de los aminoácidos libres del lote B5 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

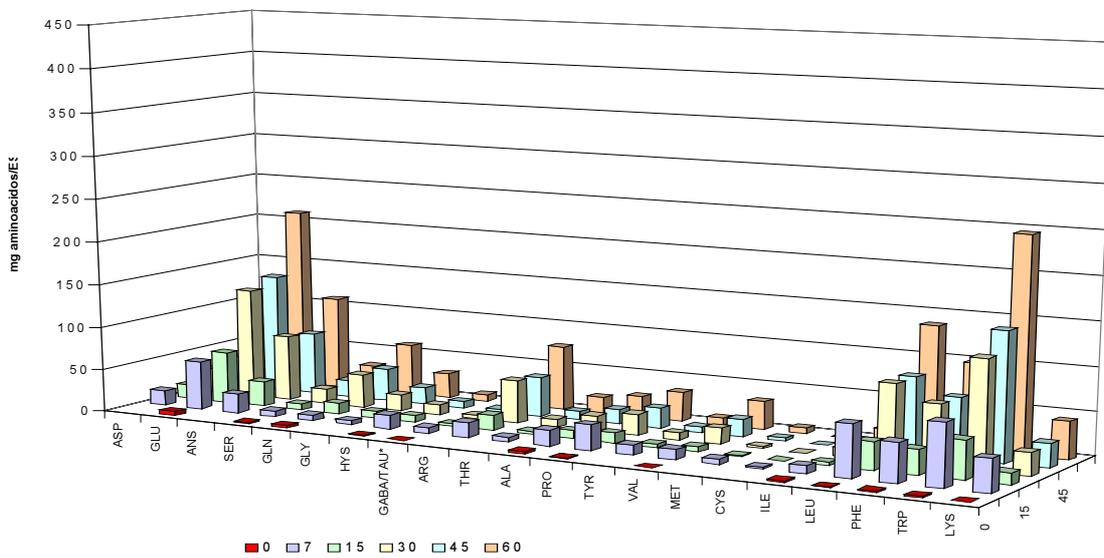


Figura 72 – Evolución de los aminoácidos libres del lote B6 del queso San Simón a lo largo de la maduración.

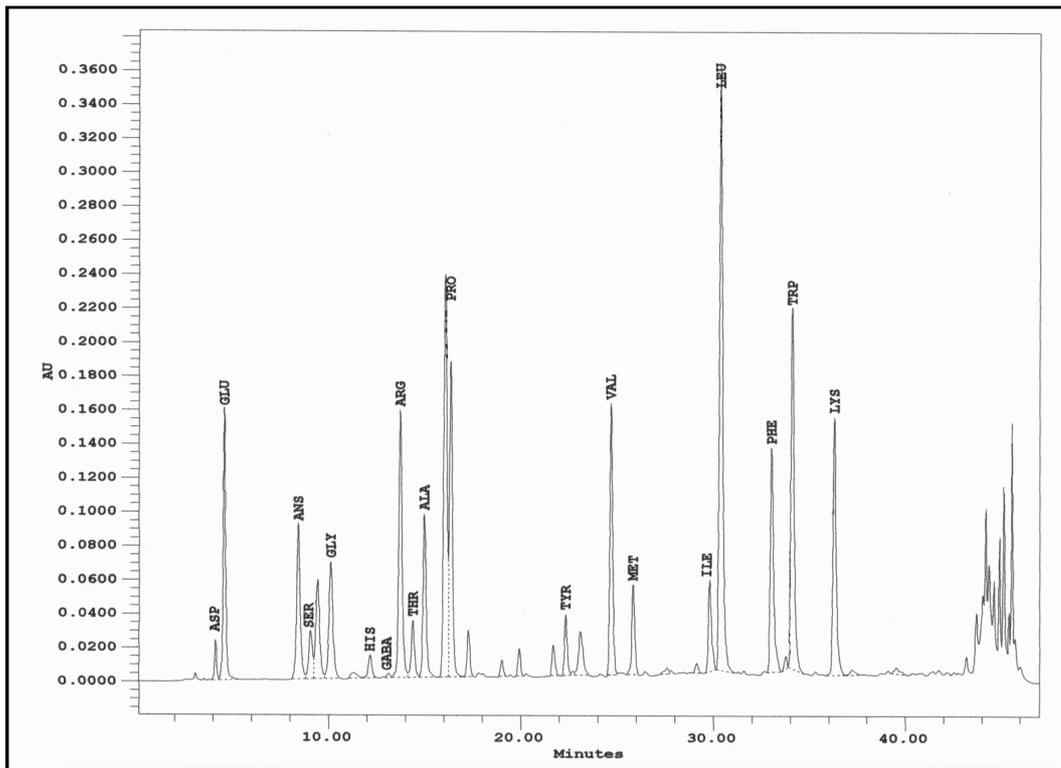


Figura 73 – Cromatograma representativo de los aminoácidos libres del lote B5 a los 60 días de maduración..

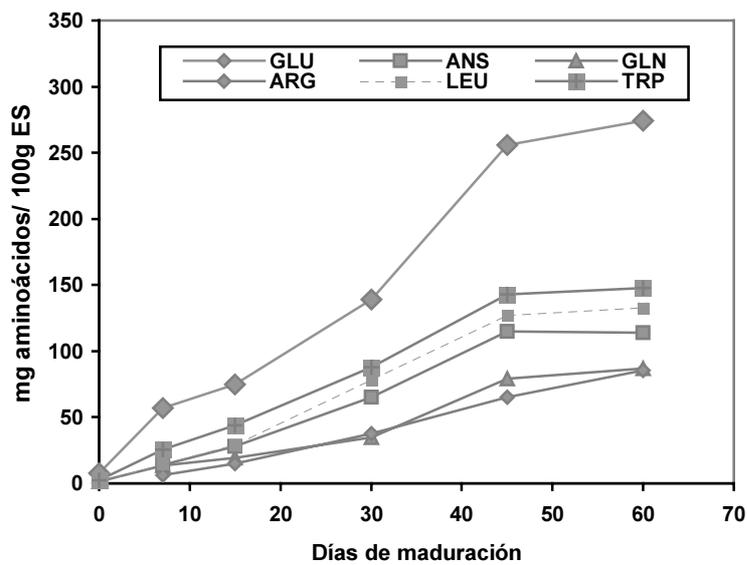


Figura 74 – Evolución media de los aminoácidos libres mayoritarios de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

III.2.2.8. – Evolución de la fracción lipídica durante la maduración en el queso San Simón da Costa fabricado de forma industrial

III.2.2.8.1. – Evolución de la grasa y del índice de acidez de la grasa de los quesos fabricados de forma industrial a lo largo de la maduración

Los cambios experimentados por la grasa y en el índice de acidez de la grasa de los quesos industriales se reflejan en la Tabla XLVIII.

Tabla XLVIII. – Evolución media del índice de acidez de la grasa en los lotes industriales a lo largo de la maduración.-

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
Grasa	54,27±3,37 ^a	53,46±2,64 ^a	52,42±2,31 ^a	52,33±1,56 ^a	50,80±3,04 ^a	53,80±3,03 ^a
IA **	0,13±0,06 ^a	0,12±0,04 ^a	0,14±0,05 ^a	0,15±0,04 ^a	0,15±0,06 ^a	0,17±0,06 ^a

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de los 6 lotes.

** IA: Índice de acidez de la grasa (mg de KOH/g de materia grasa).

^a Valores con el mismo superíndice para cada uno de los parámetros determinados a lo largo de la maduración no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$).

III.2.2.8.2. – Evolución de los ácidos grasos libres de los lotes industriales a lo largo de la maduración

La evolución del contenido de ácidos grasos libres (AGL) en los lotes industriales durante la maduración se muestra en la Tabla XLIX y las Figuras 76-81 muestran la evolución de los ácidos grasos libres de cada uno de los lotes, y la Figura 82 muestra uno de los cromatogramas obtenidos para el lote B1.

Tabla XLIX. - Evolución del contenido de ácidos grasos libres (mg/Kg de queso) de los lotes industriales a lo largo de la maduración.

	Días de maduración					
	0	7	15	30	45	60
C ₄	4,35±6,98 ^a	34,04±16,33 ^b	49,67±21,56 ^{bc}	61,02±17,64 ^c	64,21±14,36 ^c	65,31±14,27 ^c
C ₆	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C ₈	4,14±10,15	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C ₁₀	N.D.	N.D.	6,93±15,50	N.D.	N.D.	N.D.
C ₁₂	1,33±3,05 ^a	2,82±4,33 ^a	3,91±4,91 ^a	4,85±5,17 ^a	5,55±5,05 ^a	6,52±6,86 ^a
C _{18:3}	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C ₁₄	13,67±7,49 ^a	14,71±10,16 ^a	18,87±15,02 ^a	20,94±12,23 ^a	22,89±11,44 ^a	20,59±13,80 ^a
C _{18:2}	N.D.	2,18±4,40 ^a	1,37±3,36 ^a	1,82 ± 3,42 ^a	2,24±5,49 ^a	N.D.
C ₁₆	70,44±15,80 ^a	76,41±43,21 ^a	77,69±40,51 ^a	89,42±38,54 ^a	93,75±37,90 ^a	95,10±43,31 ^a
C _{18:1}	137,75±50,35 ^a	145,97±64,35 ^a	128,43±54,99 ^a	128,20±56,74 ^a	145,58±59,56 ^a	140,84±80,62 ^a
C ₁₈	12,70±4,23 ^a	11,81±6,65 ^a	11,10±5,31 ^a	13,17±5,61 ^a	14,64±5,10 ^a	14,82±5,70 ^a
TOTALES	244,39±72,54	287,94±133,05	296,82±104,56	319,43±92,65	348,85±104,14	343,18±130,25

* Valores medios ± desviación estándar de los datos obtenidos en el análisis de 6 lotes.

^{a-c} Valores con distinto superíndice para cada uno de los parámetros determinados a lo largo de la maduración fueron significativamente diferentes.

N.D. – No detectado.

Puede observarse que el único ácido graso que sufrió modificaciones estadísticamente significativas a lo largo de la maduración fue el ácido butírico. Todos los demás ácidos grasos libres prácticamente no sufrieron modificaciones, lo que está de acuerdo con los valores obtenidos para el índice de acidez de la grasa a lo largo del proceso madurativo. El ácido graso cuantitativamente más importante fue el ácido oleico (C_{18:1}), seguido del ácido palmítico (C₁₆) y el ácido butírico, un patrón semejante al que presentaron los quesos artesanales.

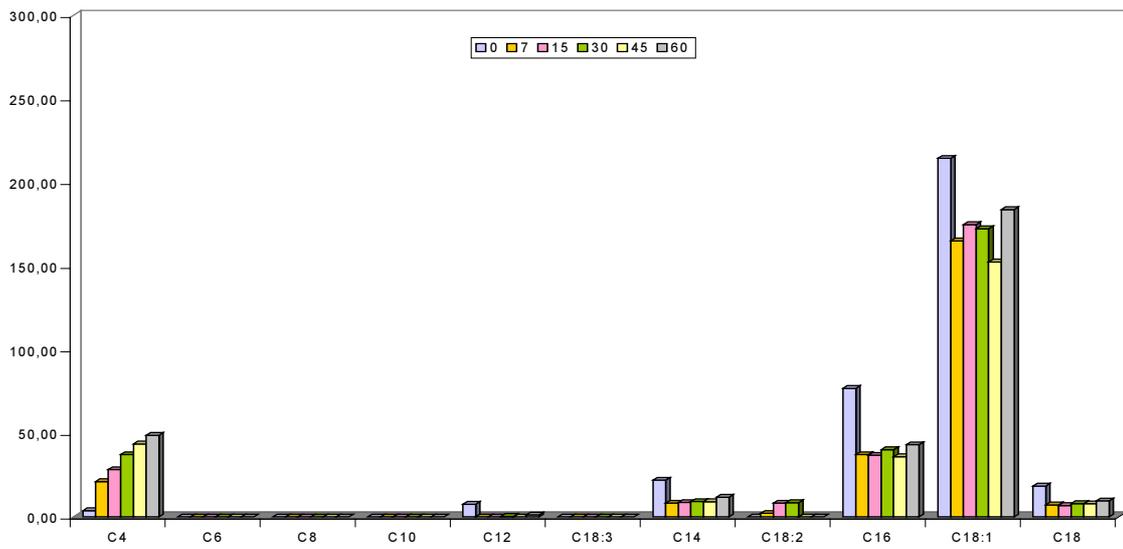


Figura 75 - Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote B1 a lo largo de la maduración.

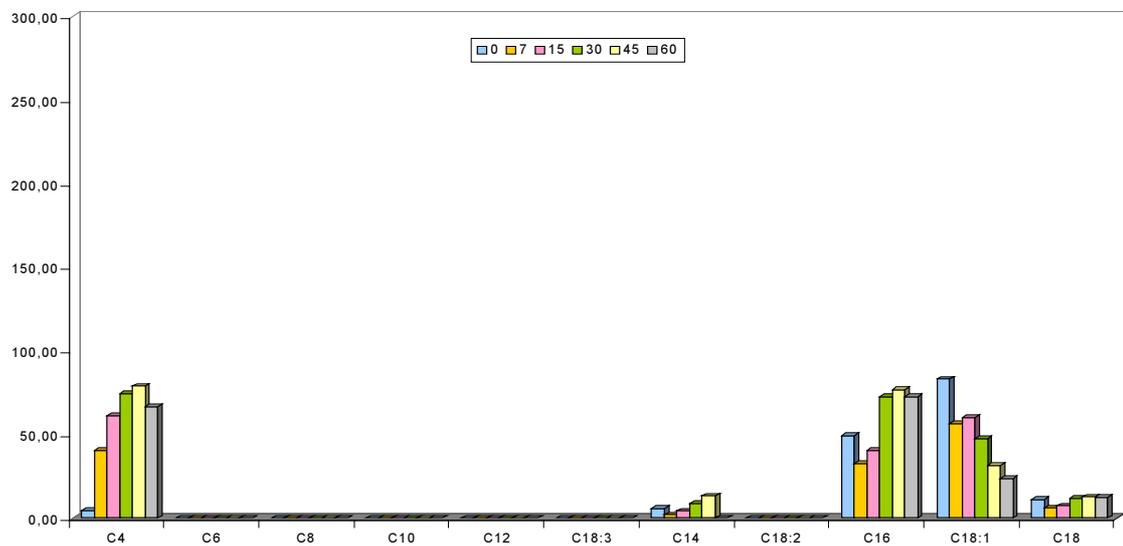


Figura 76 - Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote B2 a lo largo de la maduración.

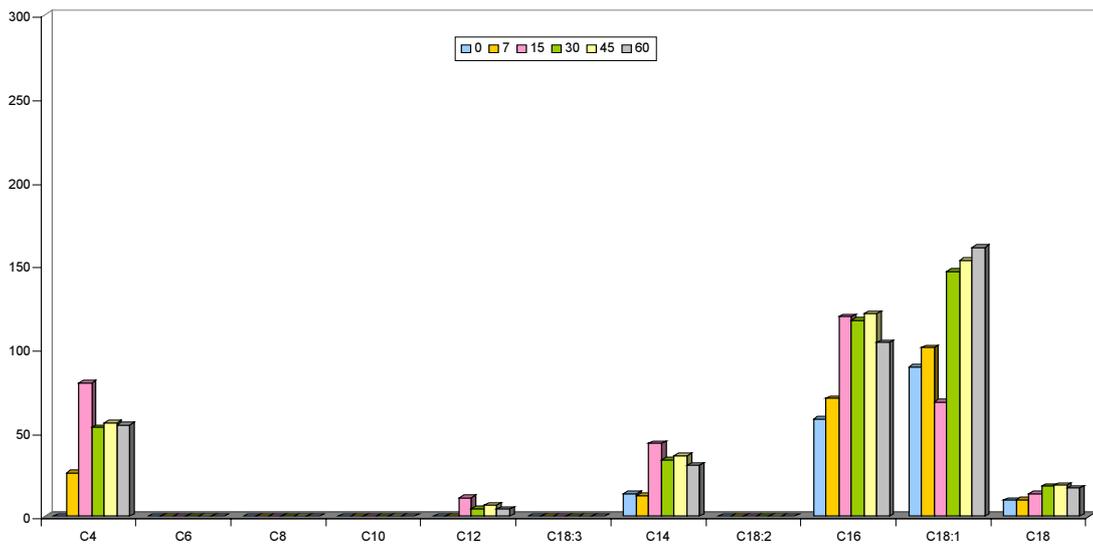


Figura 77 - Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote B3 a lo largo de la maduración.

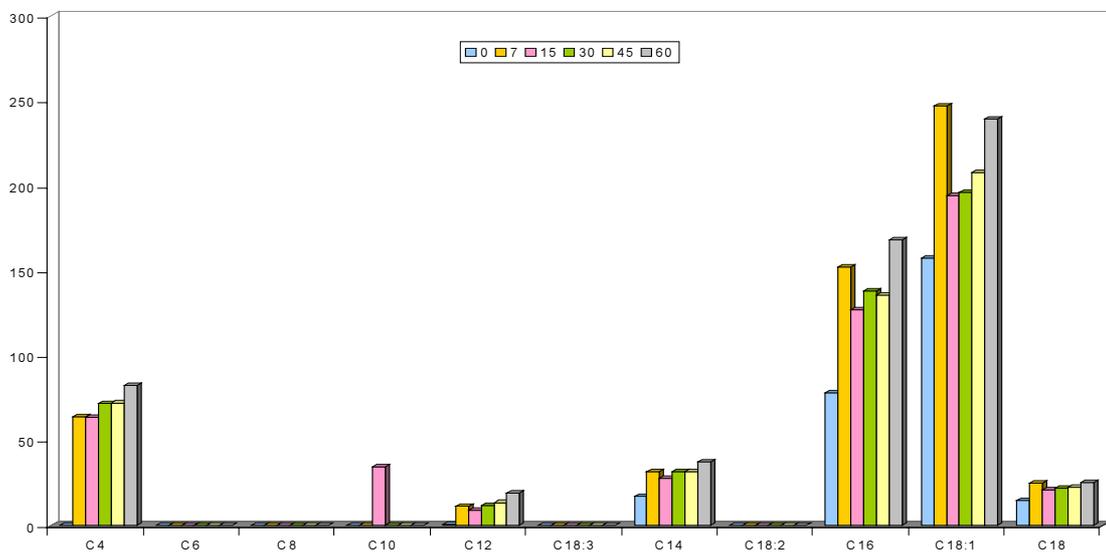


Figura 78 - Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote B4 a lo largo de la maduración.

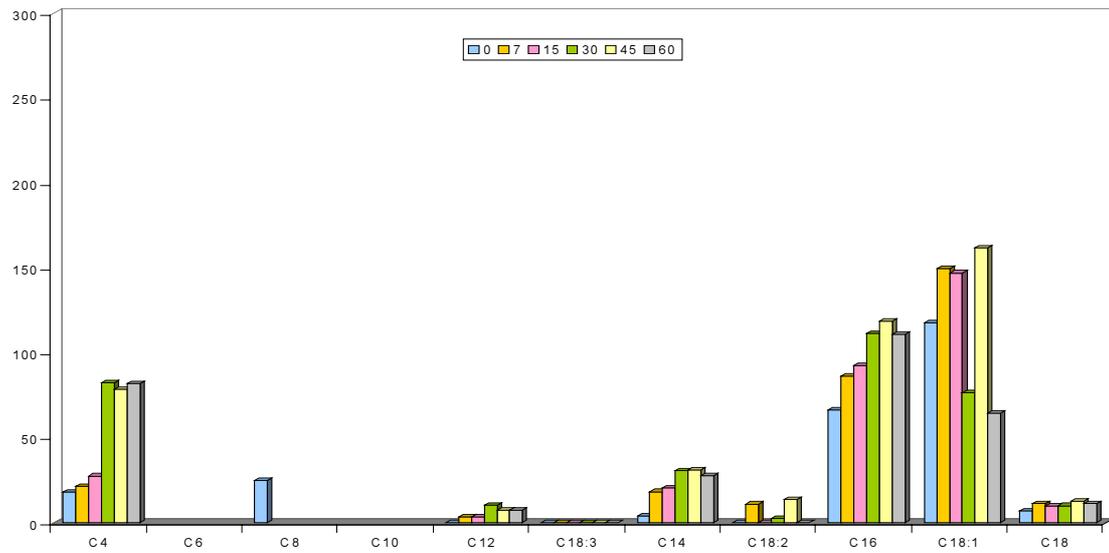


Figura 79 - Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote B5 a lo largo de la maduración.

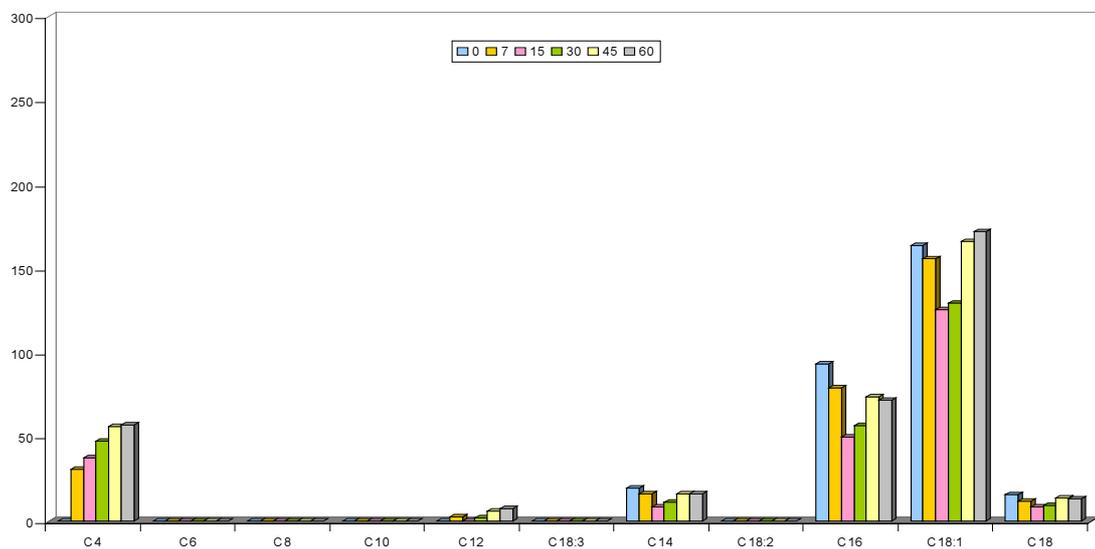


Figura 80 - Evolución de los ácidos grasos libres (expresados como mg/Kg de queso) del lote B6 a lo largo de la maduración.

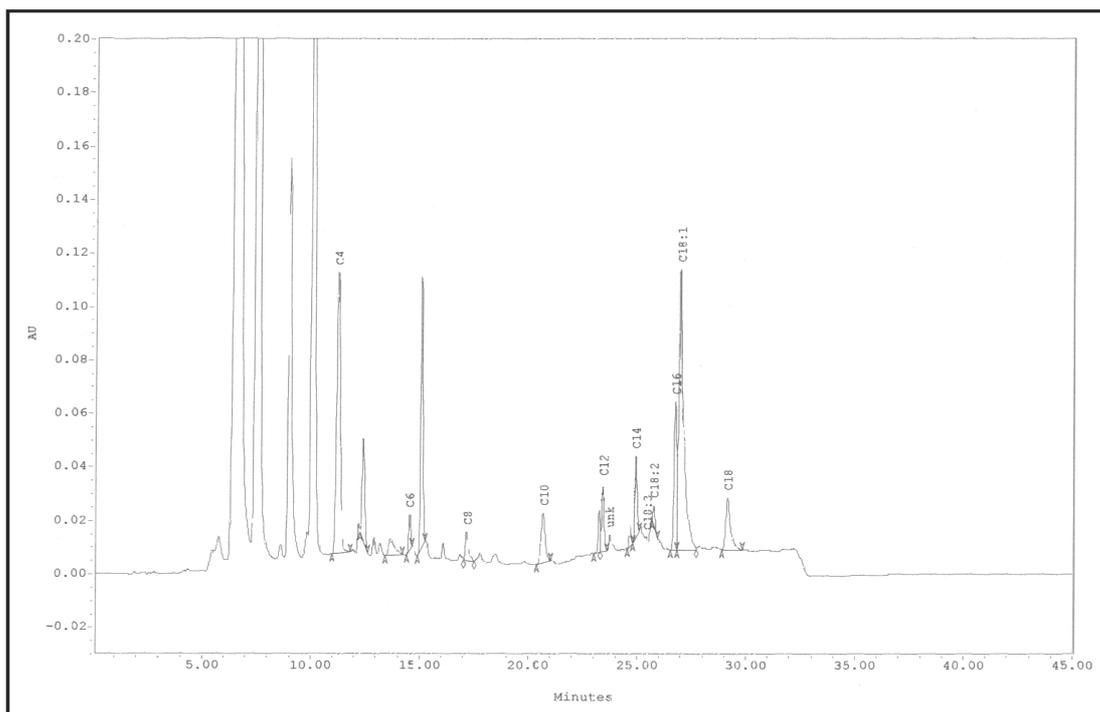


Figura 81 – Cromatograma representativo de los ácidos grasos libres del lote B1 a los 60 días de maduración.

IV.- DISCUSIÓN

IV.1. - COMPOSICIÓN BÁSICA DEL QUESO DE SAN SIMÓN DA COSTA

A pesar de las diferencias existentes entre el proceso de fabricación artesanal e industrial, que radican esencialmente en el sistema de salazonado usado y en el proceso de escaldado (ver Fig.2), la composición básica de los quesos fabricados de ambas formas resultó ser muy parecida, con la excepción del contenido en sal, y otros parámetros relacionados, que resultaron más bajos en los quesos artesanales, en los que una gran parte de la sal se pierde con el suero. Únicamente se encontraron diferencias significativas en el contenido en ácido D-láctico, que resultó más alto en los quesos artesanales y en los valores de la acidez titulable, que también fueron más elevados, y de forma paralela el pH fué inferior en estos quesos.

La a_w resultó más baja en los quesos industriales, probablemente porque contienen mayor proporción de extracto seco y de sal y también porque se ejerce un control en las cámaras de maduración, mientras que los fabricados de forma artesanal dependen en mayor medida de las condiciones ambientales. Sin embargo, las diferencias encontradas entre los valores de ES y a_w que presentaron los dos tipos de quesos no resultaron estadísticamente significativas.

Los únicos datos existentes sobre las características químicas de este queso han sido obtenidos por Marcos y col. (1985) y Fernández Martínez y col. (1990) siendo muy similares a los hallados por nosotros. En líneas generales, el contenido en componentes mayoritarios de este queso se encuentra en el rango descrito para otros quesos de vaca. En la Tabla L se recoge un resumen de los datos obtenidos por los diferentes autores para quesos de vaca nacionales y extranjeros.

El ES es comparable al que presentan algunos, como el Mahón, a pesar de que este último se comercializa tras periodos de maduración más cortos, de unos 20 días aproximadamente. Es destacable el hecho de que el queso San Simón puede mantenerse durante tiempos prolongados hasta su venta sin que llegue a secarse excesivamente, a pesar de su pequeño formato, debido a la tecnología de su elaboración que incluye un proceso de escaldado.

La acción fisicoquímica de este tratamiento consiste en que actúa sobre la caseína, provocando un efecto de curtido, de manera que se forma una película compacta que, además de conferir un aspecto liso y brillante, completa el desuerado y ayuda a la formación de la corteza, provocando el cierre de los poros de la misma, lo que dificulta el desarrollo de mohos y las pérdidas de peso durante la maduración. Por ello, el extracto seco resulta bastante inferior que el que presentan otros quesos de naturaleza similar con el mismo periodo de maduración. Por ejemplo, el queso de vaca de León, alcanza un contenido en ES del 78% a los 60 días de maduración (Prieto, 1999).

Es de destacar que, tanto el contenido graso como proteico, están en el límite superior del rango observado para los demás tipos de queso elaborados con leche de vaca (Ver Tabla L). Por ello, y atendiendo a la clasificación dada por el Código Alimentario Español (CAE, 1985) este queso se encontraría formando parte del grupo denominado “extragrasso” (> 45% grasa sobre ES).

Otro aspecto importante es que no presenta lactosa residual. Sin embargo, entre ambos tipos de quesos hay diferencias en cuanto a la proporción de ácido D-láctico que presentan, siendo la cantidad de ácido L-láctico similar.

Respecto a los parámetros físico-químicos, tanto los valores de pH determinados para este queso (con valores medios de 5,53 y 5,71 para los elaborados de forma artesanal e industrial, respectivamente) como los de a_w (0,960 para los artesanales y 0,950 para los industriales) están en la parte inferior del rango descrito para otros quesos madurados de vaca (Tabla L).

Tabla L. - Composición química y parámetros físico-químicos de diversos quesos de vaca nacionales y extranjeros. (Prieto, 1999).

	ES*	Proteína*	Grasa*	Cenizas*	NaCl			A. Láctico*	pH	a _w	Referencia
					•	*	•				
Afuega'l Pitu	51,09				1,16	2,27	2,37		4,56	0,99	Margolles y col., 1996
Afuega'l Pitu	72,32	44,07	44,78	4,77	2,07	2,87	7,47		4,73	0,956	Cuesta y col., 1996
Bola	56,40	41,84	46,63	7,97	2,22	3,93	5,09	1,95	5,17	0,957	Marcos y col., 1985
Bola	56,50	29,47			2,91	5,16	6,68		5,12	0,960	Marcos y col., 1981
Cheddar	64,00	27,81			2,15	3,37	5,97		5,45	0,960	Marcos y col., 1981
Cheddar	63,43	38,89	55,18		1,65	2,60	4,51				Thakur y col., 1975
Cheddar	64,39	38,04	54,42		1,60	2,49	4,49		5,13		Sapru y col., 1997
Cheddar, NZ	67,60	36,39	54,70		1,80	2,66	5,55		5,14		Muir y col., 1995
Cheddar, NZ	66,20		51,35						5,45		Watkinson y col., 1997
Cheddar, SCT	63,30	39,65	52,00		1,84	2,92	5,01		5,22		Muir y col., 1995
De Nata	57,40	45,12	47,38	7,14	1,70	2,96	3,99	1,74	5,29	0,963	Marcos y col., 1985
Edam	59,70	38,19	50,75	7,87	2,45	4,10	6,08	1,50	5,29	0,954	Marcos y col., 1985
Edam	58,30	33,81			1,44	2,48	3,45		5,50	0,980	Marcos y col., 1981
Edam	55,10	45,00	43,60		2,78	5,06	6,19		5,30		Muir y col., 1995
Gallego	53,40	36,33	52,43	6,55	1,67	3,12	3,58	1,87	5,23	0,967	Marcos y col., 1985
Gouda	62,80	39,33	48,90		2,36	3,77	6,34		5,35		Muir y col., 1995
Gouda	60,70	27,09			2,31	3,82	5,87		5,40	0,950	Marcos y col., 1981
Limburger	44,10	46,26	48,40					0,66			Sieber y col., 1994
Mahón	68,30	39,38	47,73	9,95	4,29	6,28	13,53	2,49	4,94	0,881	Marcos y col., 1985
Mahón	57,70	42,63	46,62	11,28				3,39			Alcalá y col., 1982
Mimolette	54,30	41,34			3,42	6,31	7,48		5,51	0,960	Marcos y col., 1981
Munster	50,00	40,00	48,00								Dillon, 1987
Munster	49,70	38,35			2,30	4,64	4,57		5,68	0,970	Marcos y col., 1981
Quartirollo di Monte	48,97	37,68	54,81	7,48				0,89			Paleari y col., 1993
Reblochon	48,30	42,02	52,10					0,33			Sieber y col., 1994
San Simón	66,00	41,21	50,00	6,06	2,27	3,45	6,67	2,57	5,04	0,933	Marcos y col., 1985
San Simón	58,10	40,79	52,32	6,72	2,13	3,68	5,08	1,61	6,06	0,960	Marcos y col., 1983b
St. Nectaire	54,55		52,12						5,51		Coulon y col., 1998
St. Paulin	60,00	46,66	40,00								Dillon, 1987
St. Paulin	52,50	31,97			1,79	3,42	3,76		5,30	0,980	Marcos y col., 1981
Taleggio	49,50	41,65			1,77	3,59	3,50		5,37	0,980	Marcos y col., 1981
Tetilla	60,90	36,12	54,68	6,24	1,51	2,49	3,86	1,80	5,08	0,956	Marcos y col., 1985
Tetilla	55,90	37,20	57,06	5,79	1,73	3,11	3,92	1,55	5,71	0,970	Marcos y col., 1983c
Tomme	45,00	46,00	50,00					0,38			Sieber y col., 1994
Vacherin fribourgeois	57,70	41,59	52,60					1,53			Sieber y col., 1994
Vacherin Mont-d'Or	43,20	40,74	53,60					0,88			Sieber y col., 1994
Vidiago	54,90				1,47	2,68	3,26		5,29	0,97	Margolles y col., 1996

*Expresado como g/100 g queso

*Expresado como porcentaje del extracto seco

•Expresado como g NaCl/100 g H₂O

La a_w que presentan los distintos tipos de quesos de vaca se encuentra en un rango de variación que abarca desde 0,99 hasta 0,95-0,96 aunque en ocasiones se alcanzan valores más bajos, como en el queso de Mahón (0,881). La actividad del agua está regulada por fenómenos físicos, como el desuerado, la evaporación del agua o la difusión de la sal, por fenómenos químicos, las interacciones sustrato-cloruro sódico y bioquímicos, como son todos los procesos glucolíticos, lipolíticos y proteolíticos que tienen lugar, de ahí que algunos quesos como el parmesano o los quesos de vena azul presenten valores mucho más bajos (0,917 y 0,906, respectivamente). El queso San Simón da Costa alcanza valores de a_w similares a los hallados para el Edam, Gouda o el de Tetilla (Tabla L). Otros quesos españoles pertenecientes al grupo de los quesos semicurados y curados de vaca (De Benasque, Casin, Mahón, Valle de Arán) han sido poco estudiados, exceptuando el queso de Mahón y en alguna medida el Casin, pero éste último se elabora mediante un procedimiento que incluye varios amasados, por lo que sus características finales son muy diferentes.

Por lo que se refiere a la composición mineral media, excepto en el caso del sodio, debido a los distintos procesos de salazonado utilizados, no existieron diferencias entre ambos tipos de queso. Los elementos mayoritarios cuantitativamente más importantes resultaron ser el calcio (1,82g/100g ES en los artesanales y 1,61g/100g ES en los industriales) y el fósforo (1,14g/100g ES en los artesanales y 0,99g/100g ES en los industriales) y entre los minoritarios el más abundante fue el zinc (3,32mg/100g ES en los artesanales y 2,89mg/100g ES en los industriales) seguido del hierro (0,29mg/100g ES en los artesanales y 0,16mg/100g ES en los industriales) y del manganeso (0,02mg/100g ES en los artesanales y 0,024mg/100g ES en los industriales).

En las tablas LI y LII se muestra un resumen de los datos existentes en la bibliografía sobre la composición en macro y microelementos minerales de diversos quesos de vaca nacionales y extranjeros.

Los contenidos en calcio oscilaron entre 5,22 g/Kg de extracto seco para el Limburger hasta 17,13g/Kg ES para los quesucos.

Los datos para el P presentaron también un intervalo de variación muy amplio, entre 1,85 g/Kg E.S. para el Vacherin Mont-d'Or hasta 11,41 g/Kg E.S. para el queso denominado de Nata.

El contenido en macroelementos que presenta el queso San Simón, es especialmente alto, superior al que se ha descrito para otros tipos de queso (ver tabla LI), especialmente en lo que se refiere a la proporción de Ca y Mg. Este hecho tiene gran interés, por la importancia que estos elementos minerales tienen en la alimentación humana. En líneas generales, los quesos constituyen excelentes fuentes de calcio, aunque su nivel varía en función de su contenido en agua, del tipo de leche y del proceso de fabricación, factores que van a influir también sobre la composición mineral del queso que está afectada fundamentalmente por el método de coagulación, el de desuerado y el de salazonado, influyendo de forma muy acusada algunos parámetros, como el pH durante la coagulación o el tamaño del grano de la cuajada en el momento del desuerado (Wong y col., 1976 y 1977). En el queso San Simón la acidificación debe ocurrir solamente cuando la cuajada enfría durante el prensado, por lo que retendrá una gran proporción de minerales. Es generalmente aceptado que los quesos de pasta prensada presentan un contenido en calcio bastante constante y que existen más variaciones en los de pasta blanda. Guegen (1979) ha propuesto una clasificación de los quesos en función de su cantidad de Ca. Según este autor, los diferentes tipos de quesos presentan el siguiente contenido de Ca, expresado en mg/100g de queso:

<i>De pasta prensada cocida</i>	1000 -1200
<i>De pasta prensada</i>	600 - 900
<i>Fundidos</i>	500 - 700
<i>De pasta blanda y corteza lavada</i>	400 - 800
<i>De pasta blanda con mohos en superficie</i>	200 - 500
<i>De cabra</i>	100 - 300
<i>Frescos</i>	60 - 100

En nuestro caso, tanto los quesos fabricados de modo artesanal como los industriales presentaron un contenido de calcio superior (1820 y 1610 mg /100 g de queso) al rango descrito por el citado autor. El proceso de escaldado que se emplea para su fabricación debe de intervenir también en la retención de este mineral, tan importante para la nutrición humana, ya que se asimila bien por el

organismo porque el queso aporta proporciones relativas de calcio y fósforo adecuadas y además la presencia de proteínas favorecerá la absorción intestinal (Dillon, 1990). Se estima que el consumo diario medio para un adulto debería ser de 1 g de Ca, por término medio, por lo que la ingestión de tan sólo unos 100 g de este queso bastaría para cubrir las necesidades diarias de este mineral, aunque también habría que tener en cuenta otros criterios como biodisponibilidad, etc.

El contenido de K (175 mg/100g de queso en los artesanales y 157 mg/100g de queso en los industriales) no resultó ser muy diferente que el hallado para otras variedades, que osciló entre 0,64 g/Kg ES para el queso de Tetilla, hasta 3,82 g para el ahumado de Aliva. El Mg alcanzó valores finales de $0,71 \pm 0,22$ g/Kg ES en los quesos artesanales y $0,66 \pm 0,06$ g/Kg ES en los industriales. Los valores descritos en la bibliografía son muy variables, desde 0,19 mg/ Kg Es para el queso de Tetilla hasta 2,11 mg/ Kg ES para el Edam (Tabla LI).

Estos tres minerales (Ca, P y Mg) son los elementos más importantes y su retención es fundamental, no sólo desde el punto de vista nutritivo, sino también del tecnológico, porque contribuyen a la estabilidad de la caseína y, por tanto, a la textura del queso, determinando también en buena medida la capacidad tampón de la masa.

En relación con los componentes minoritarios, cuantitativamente resulta ser el Zn el más importante. El Zn existe en concentraciones relativamente altas en la leche contribuyendo en un 13-25% a las necesidades dietéticas diarias (Jarret, 1979). En general, los valores hallados para los elementos traza concuerdan con los existentes en la bibliografía para otros tipos de queso.

El estudio de la composición en oligoelementos de los quesos es interesante por varias razones. Por un lado, alguno de estos elementos, como el Fe y el Cu, además de su actividad catalítica en la oxidación de los lípidos, estimulan el crecimiento de algunos microorganismos productores de aroma, como *Leuconostoc citrovorum*, utilizados como cultivos iniciadores. Por otra parte, resultan variables útiles para diferenciación entre quesos, según la especie de procedencia de la leche, ya que parece que algunas relaciones que se pueden establecer, como Fe/K, Na/Ca, Zn/Cu ó Na/Mg y Zn dan una clasificación correcta

en un 97,1% de los casos (Martín Hernández y col., 1992, a). Por ejemplo, los quesos de cabra se distinguen claramente usando las variables K/Zn, Fe/Cu y P.

Por lo que respecta a los índices de lipólisis y proteólisis este queso presenta un mínimo grado de lipólisis, mientras que la proteólisis es moderada, similar a la del queso de Tetilla en extensión, pero más intensa, ya que que son superiores los valores hallados para el NNP.

Estos aspectos se discutirán con mayor profundidad en los apartados correspondientes (III.2.1.7; III.2.1.8 y III.2.2.7; III.2.2.8).

IV.2. - EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS COMPOSICIONALES Y FISICO-QUÍMICOS DEL QUESO A LO LARGO DE LA MADURACIÓN

IV.2.1. - Extracto seco

Todos los quesos pierden durante la maduración cierta cantidad de agua, teniendo lugar las mayores pérdidas durante el salazonado, llegando a suponer éstas entre un 5 y un 10% de la masa del queso. Terminado el salazonado, continúa la deshidratación en las bodegas o cámaras de maduración. El ritmo de pérdida de agua está condicionado por el tamaño y forma del queso, dependiendo también de las condiciones higrométricas de las cámaras y del tipo de queso de que se trate, ya que en los que se forma la corteza, la velocidad de secado se reduce drásticamente, aunque no se detiene por completo.

El queso San Simón da Costa sufre un proceso de escaldado que favorece la formación de la corteza, originándose una película compacta que además de conferirle un aspecto liso y brillante, dificulta la salida del agua al exterior. Por ello, el extracto seco al final de la maduración, no alcanza valores altos, en torno al 60%. La pérdida de humedad fue más acusada durante los primeros 7 días, resultando luego más ligera en las últimas etapas. Los valores de ES encontrados para este queso concuerdan con los descritos previamente por Marcos y col., (1983, c y 1985) y son también comparables con los obtenidos para otros quesos del mismo tipo, como el de Tetilla (Marcos y col., 1985), el St Paulin (Dillon, 1987), el Gouda (Marcos y col., 1981; Muir y col., 1995), el Cheddar (Marcos y col., 1981; Thakur y col., 1975) aunque este último queso supera en muchas ocasiones los 12 meses de maduración.

Tabla LI. - Composición en macroelementos minerales (g/Kg ES) de diversos quesos de vaca nacionales y extranjeros. (Prieto, 1999)

	P	Ca	Na	Mg	K	Referencia
Ahumado de Áliva	7,26	11,64	7,48	0,38	3,82	Fresno y col., 1995
Bola	8,28	13,01	11,50	0,33	1,18	Marcos y col., 1985
Bola	7,88	13,57	20,66	0,50	1,44	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Cheddar	10,38	13,90	6,70	0,63	1,40	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Cheddar			9,88			Thakur y col., 1975
De Nata	11,41	12,00	8,97	0,83	1,09	Marcos y col., 1985
Edam	7,65	12,53	12,12	2,11	1,00	Marcos y col., 1985
Gallego	7,37	10,46	10,24	0,29	1,03	Marcos y col., 1985
Limburger	4,97	5,22	17,21	0,35	2,04	Sieber y col., 1994
Mahón	6,99	8,18	18,65	0,30	2,09	Marcos y col., 1985
Mahón	7,58	12,33	20,44	0,51	2,45	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Munster	6,40	9,00	19,40	0,46	2,50	Dillon, 1987
Port-Salut	11,00	14,37	5,32	0,35	1,73	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Quartírolo				0,36		Coni y col., 1995
Quesucos	8,33	17,13	10,79	0,46	2,27	Fresno y col., 1995
Reblochon	6,54	7,99	16,56	0,43	1,73	Sieber y col., 1994
Saint-Paulin	6,00	11,66	14,66	0,58	1,66	Dillon, 1987
San Simón	7,31	9,57	10,00	0,27	1,10	Marcos y col., 1985
San Simón	6,69	9,89	8,48	0,31	1,01	Marcos y col., 1983c
Tetilla	6,81	9,80	5,73	0,19	0,64	Marcos y col., 1985
Tetilla	7,34	11,37	13,21	0,44	1,10	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Tetilla	5,90	9,89	12,64	0,53	1,55	Marcos y col., 1983c
Tomme	5,18	6,36	15,98	0,40	1,69	Sieber y col., 1994
Vacherin fribourgeois	2,25	10,59	8,77	0,43	1,53	Sieber y col., 1994
Vacherin Mont-d'Or	1,85	8,61	15,67	0,45	1,81	Sieber y col., 1994

Tabla LII. - Composición en microelementos minerales (mg/Kg ES) de diversos quesos de vaca nacionales y extranjeros. (Prieto, 1999).

	Zn	Fe	Cu	Mn	Referencia
Ahumado de Áliva	32,07	3,17	0,96	0,63	Fresno y col., 1995
Bola	48,01	13,04	1,34	1,20	Marcos y col., 1985
Bola	49,60	3,88	1,55	0,51	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Cheddar	48,05	2,26	0,70	0,21	Juárez y Martín-Hernández, 1983
De Nata	45,94	10,41	1,68	0,95	Marcos y col., 1985
Edam	42,02	9,09	1,75	1,00	Marcos y col., 1985
Gallego	43,37	11,79	1,34	1,21	Marcos y col., 1985
Limburger	42,18	1,81	1,36	0,91	Sieber y col., 1994
Mahón	45,06	5,68	1,04	0,82	Marcos y col., 1985
Mahón	38,77	6,71	0,74	0,26	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Munster	120				Dillon, 1987
Port-Salut	47,95	4,17	1,43	0,28	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Quartirollo	52,11	5,50	12,34	0,31	Coni y col., 1995
Quesucos	55,04	3,57	1,26	0,84	Fresno y col., 1995
Reblochon	45,55	1,86	1,04	1,24	Sieber y col., 1994
Saint-Paulin	166				Dillon, 1987
San Simón	42,13	4,91	1,01	1,37	Marcos y col., 1985
San Simón	86,05	12,04			Marcos y col., 1983c
Tetilla	25,84	3,51	0,55	1,15	Marcos y col., 1985
Tetilla	54,27	3,98	1,46	1,00	Juárez y Martín-Hernández, 1983
Tetilla	98,38	8,94			Marcos y col., 1983c
Tomme	41,78	2,00	1,33	0,89	Sieber y col., 1994
Vacherin fribourgeois	46,62	1,39	8,49	0,69	Sieber y col., 1994
Vacherin Mont-d'Or	43,52	1,85	20,14	1,16	Sieber y col., 1994

IV.2.2. - Lactosa y ácidos L y D-lácticos

La lactosa alcanza cifras iniciales bastante altas, a pesar del lavado a que es sometida la cuajada, pero se degrada rápidamente durante los 15 primeros días de maduración, no apareciendo a partir de este momento en ninguno de los quesos estudiados. A ello debe contribuir, sin duda, el bajo contenido en sal/humedad que éstos presentan, sobre todo los elaborados de forma artesanal, por el sistema de salazonado usado.

La concentración de lactosa en la cuajada resultó superior en los quesos artesanales, representando prácticamente el doble de la que apareció en los industriales, probablemente porque el proceso de lavado sea más exhaustivo en estos últimos, pero también deberá influir la actividad de las bacterias lácticas usadas en el proceso de fabricación, que dará lugar a una más rápida metabolización de la lactosa, haciéndola desaparecer muy rápidamente. En uno de los lotes industriales (B1) la degradación de la lactosa fué más lenta que en los demás (ver Fig. 47), probablemente debido a la mayor cantidad de sal que presentaba este queso (Fig. 50).

La acidificación ocurre en las primeras etapas, cuando la cuajada enfría durante el proceso de prensado. Con algunas excepciones, representadas por el Cheddar, Cheshire, etc., la mayor parte del ácido láctico es producido después del moldeado de la cuajada. En el queso San Simón da Costa se instauran valores de pH relativamente altos y en estas condiciones también pueden actuar de forma óptima las β -galactooxidasas de la flora acidoláctica (Sing y col., 1979; Rao y Dutta, 1981).

Por otra parte, los porcentajes de sal/humedad sólo aumentaron al final de la maduración en los quesos industriales, con valores ligeramente superiores al 6%, por lo que no deben inhibir a las bacterias lácticas responsables de la formación de ácido L-láctico. Esta forma del ácido láctico en general va desapareciendo debido a la transformación en ácido D-láctico, vía una reacción de racemización propiciada por los microorganismos presentes.

Thomas y Crow (1983) observaron, trabajando con queso Cheddar, que los pediococos y los lactobacilos pueden convertir el L-lactato en D-lactato a través

de la intervención de una L y una D-lactato deshidrogenasa. Parte del L-lactato podría también desaparecer por oxidación. La formación de acetato a partir de L-lactato ha sido descrita por Thomas (1987) en queso Cheddar y según Fox y col. (1993, a) parece que tenga lugar en todos los quesos duros y semiduros.

La oxidación total a CO₂, bien por parte de la flora acidoláctica, o por la acción de mohos y levaduras, tampoco puede ser desestimada como causa del descenso del L-lactato.

En el queso San Simón de Costa el incremento en el contenido de ácido D-láctico coincide con un ligero descenso del L-láctico por lo que se podría asegurar que la forma D se producirá a través de reacciones de racemización, aunque al final de la maduración se estabiliza la proporción existente de ácido D-láctico, por lo que parece más probable que se origine de forma directa a partir de la galactosa por medio de la acción de ciertos microorganismos.

El contenido final de los ácidos D y L lácticos (3,72 g /100 g de queso en los artesanales y 2,80 en los industriales) resultó más alto que el hallado para otros quesos de vaca (ver Tabla L), con la excepción de los valores descritos previamente por Marcos y col.(1985) para este mismo queso y por Alcalá y col. (1982), para el queso de Mahón.

La mayor variedad de la flora que existe en los quesos elaborados artesanalmente será la responsable de la mayor proporción de ácido D-láctico que estos presentan (1,69±0,51 para los artesanales y 0,93±0,45 g/100g ES, para los industriales al final de la maduración), así como a la más rápida aparición del mismo (0,89±0,39 para las muestras de 15 días de los artesanales, frente a valores de 0,20±0,18 g/100g ES, para los industriales) (ver Tablas XII y XXVI).

La degradación de la lactosa producirá un aumento de la acidez titulable, aunque también contribuirán a ello otros ácidos generados por la acción de la flora láctica, así como los productos de degradación de los aminoácidos. Generalmente, los quesos producidos con leche pasteurizada presentan acidez titulable más baja que los producidos con leche cruda, Esto se verifica en el queso San Simón (ver Tablas XVII y XLI).

IV.2.3. - Evolución del contenido en cenizas, cloruro sódico y macro y microelementos minerales a lo largo de la maduración

El contenido en cenizas, con valores finales de $5,46 \pm 0,29$ g/100 ES para los quesos artesanales y $6,68 \pm 0,64$ para los industriales, se mantuvo constante a lo largo de la maduración, exceptuando el aumento que tuvo lugar en los lotes industriales tras el salazonado, lo que también se manifiesta en la mayor proporción de cenizas que presentaron estos quesos a partir de ese momento. Estos datos concuerdan bien con los obtenidos previamente por Marcos y col. (1983, c y 1985) para este queso, y son también similares a los hallados por estos mismos autores para el queso de Tetilla (Marcos y col., 1983 c, 1985). En líneas generales, el contenido en cenizas resultó más elevado que el hallado para otros quesos de vaca (ver Tabla L).

El contenido de cloruro sódico siguió una evolución paralela a la de las cenizas alcanzándose valores más altos en los quesos industriales ($2,84 \pm 0,61$ g NaCl/100g ES) que en los artesanales ($1,08 \pm 0,01$), lo que refleja las diferencias en el proceso de salazonado utilizado.

La relación sal/humedad (S/H) se incrementó ligeramente a lo largo de la maduración y los valores finales fueron también bastante diferentes en los dos tipos de quesos estudiados ($1,65 \pm 0,05$ en los artesanales y $7,49 \pm 1,92$ en los industriales). Estos últimos datos se encuentran dentro del rango de los hallados para otros tipos diferentes de quesos (ver Tabla L) mientras que los obtenidos para los fabricados de modo artesanal son bastante inferiores.

Los contenidos en calcio, fósforo y magnesio no se modificaron a lo largo de la maduración, permaneciendo también constante la relación Ca/P. Este hecho era de esperar ya que tampoco se produjo una fuerte acidificación de la cuajada en el proceso de formación de la misma y por ello el Ca quedó retenido. El contenido final de estos elementos minerales ligados a la micela de caseína resultaron más elevados que el que presentan otros quesos de vaca (Tabla LI), según se ha comentado anteriormente.

El contenido en Na experimentó una evolución semejante a la de la sal, **El potasio** permaneció estable en ambos tipos de quesos durante todo el proceso

madurativo alcanzando valores finales más altos que los observados en la bibliografía para otros quesos (ver Tabla LI).

Entre los microelementos, el zinc fue el mayoritario, como suele ser habitual en el queso, con valores en torno a los 30 mg/Kg de extracto seco, que se mantuvieron constantes a lo largo de toda la maduración. Los contenidos en hierro, cobre y manganeso tampoco variaron durante todo el proceso madurativo, resultando en todos los casos prácticamente más bajos que los valores que aparecen en la bibliografía para otros quesos de vaca (ver Tabla LII).

IV.2.4. - Evolución de los parámetros fisicoquímicos durante el proceso madurativo

En los quesos fabricados en las industrias se produjo un descenso del pH de las cuajadas hasta valores de $5,75 \pm 0,20$ que se mantuvieron prácticamente constantes durante toda la maduración.

En los artesanales se produjo un descenso significativo del pH, del orden de una unidad, en los primeros siete días, para después permanecer constante. A ello debe contribuir la capacidad tampón de la masa del queso, en la que quedan retenidos prácticamente todos los minerales, y la formación de compuestos de naturaleza alcalina generados en el curso de la degradación proteica.

La acidez titulable (Tablas XVII y XLI) aumentó de forma continuada en los quesos artesanales y sólo durante la primera semana en los industriales. A partir de los 30 días de maduración, las partidas elaboradas de forma artesanal presentaron valores de acidez de valoración global significativamente más elevados que los lotes elaborados en las industrias. Dado que el contenido total de ácido láctico resultó superior en los artesanales, se podría deducir su contribución al incremento de la acidez de valoración global que también será debido, al menos en parte, a la mayor proporción de aminoácidos libres que presentan estos quesos (Tablas XII y XXII) que también son titulados por la disolución de NaOH.

La actividad del agua de las muestras a lo largo de la maduración alcanzó siempre valores más bajos en los quesos industriales, lo que no es de extrañar, dado que el contenido en sal fue superior.

La a_w del queso está también determinada por la tasa de degradación proteica que sufre, ya que el aumento de las fracciones nitrogenadas de bajo peso molecular conlleva una disminución de este parámetro. Ruegg y Blanc (1977) encontraron en queso Emmental una elevada correlación entre los valores de la actividad del agua y los contenidos en agua ($r = + 0,836$) y nitrógeno soluble ($r = - 0,871$). Marcos y colaboradores (1981) estudiando 34 muestras de diferentes quesos europeos encontraron también una correlación significativa entre la actividad del agua y los contenidos en humedad ($r = + 0,556$), cloruro sódico ($r = - 0,808$), nitrógeno soluble ($r = - 0,519$), nitrógeno no proteico ($r = - 0,671$), nitrógeno peptídico ($r = - 0,631$) y nitrógeno amínico ($r = - 0,469$). Según nuestros datos se puede asegurar que los compuestos de bajo peso molecular generados en el transcurso de las reacciones proteolíticas no deben ejercer un efecto depresor sobre la actividad del agua. De hecho, los lotes elaborados de forma artesanal, que presentaron una proteólisis más intensa, mostraron durante todo el periodo madurativo valores medios de actividad del agua más elevados que los lotes fabricados en las industrias, por lo que parece que serán los valores de cloruros y de extracto seco, ligeramente superiores en estos últimos, los que mayor influencia tienen sobre la misma. Datos similares han sido descritos por Prieto y col. (1994) para el queso de vaca de León. Estos autores trabajando con 24 muestras de quesos observaron una correlación entre los valores de actividad del agua y los contenidos en humedad ($r = + 0,77$), cenizas ($r = - 0,93$) y cloruros ($r = - 0,88$), no resultando significativas las correlaciones entre los valores de actividad del agua y los contenidos de las diferentes fracciones nitrogenadas que forman parte del nitrógeno soluble.

IV.2.5. - Evolución de los parámetros proteolíticos a lo largo de la maduración

El contenido en **nitrógeno soluble**, expresado como % sobre NT ($5,80 \pm 0,05$ y $5,13 \pm 0,89$ para los quesos de 0 días, artesanales e industriales, respectivamente) aumentó de forma significativa en ambos tipos de queso a partir de la primera semana de maduración. El incremento fue más importante en las partidas elaboradas de forma artesanal resultando los valores significativamente más altos en estos quesos a partir de los 45 días de maduración, por lo que parece importante el protagonismo de la flora presente en los procesos proteolíticos. Es de destacar que la cantidad de quimosina retenida en las cuajadas debe ser escasa, ya que está fuertemente influida por el pH en el momento del desuerado, aumentando a medida que el pH es más bajo (Creamer y col., 1985; Holmes y col., 1977). Por otra parte, las temperaturas a las que se somete el queso durante el proceso de escaldado también contribuirán a desestabilizar la enzima retenida en las cuajadas. Los valores finales de NST ($25,72 \pm 7,12$ para los artesanales y $21,72 \pm 5,33$ para los industriales) están dentro del rango descrito para otros quesos de vaca y ponen de manifiesto que los procesos proteolíticos no son muy acusados en el queso San Simón da Costa, y que el corto periodo madurativo que, en general, sufren los quesos de vaca, no proporciona el tiempo suficiente para que la proteólisis llegue a ser muy acusada.

La acción residual del cuajo sobre las caseínas se traduce en la liberación de péptidos de gran tamaño que constituyen la fracción proteosa-peptona. Las diferencias entre ambos tipos de queso sólo resultaron significativas al final de la maduración, con valores de $18,49 \pm 8,47$ para los artesanales y $12,67 \pm 3,60$ para los industriales. Sin embargo, también en las cuajadas resultaron superiores las cifras obtenidas para los quesos artesanales (ver Tablas XX y XLIV). Los valores de esta fracción reflejan la intervención de la quimosina en la proteólisis del queso. La menor proporción en que aparecen en los quesos fabricados en las industrias puede ser debida a que el proceso de escaldado sea más intenso, originando una mayor inactivación de la quimosina, aunque también podría



contribuir el hecho de que los más altos valores de S/H que presentan reduzcan la actividad de la enzima.

En la Tabla LIII se presenta un resumen de los datos existentes en la bibliografía sobre las fracciones nitrogenadas que presentan diversos quesos de vaca, nacionales y extranjeros.

El nitrógeno peptídico resultó ser significativamente más alto desde las primeras etapas del proceso madurativo en los lotes de los quesos industriales, lo que indica también una mayor intervención de las bacterias lácticas en los procesos proteolíticos de los quesos artesanales, que originarán una mayor formación de componentes pertenecientes a la fracción del nitrógeno no proteico (pequeños péptidos, aminoácidos y nitrógeno amoniacal).

La formación de péptidos de pequeño tamaño y su posterior degradación a aminoácidos libres refleja la actividad de las enzimas proteolíticas de origen microbiano. Trabajos efectuados con quesos en cuya elaboración se controlaba la flora microbiana pusieron de manifiesto este hecho (Gripon y col., 1975; Desmazeaud y col., 1976; O'Keeffe y col., 1976; Visser, 1977, b; Visser y De Groot-Mostert, 1977; O'Keeffe y col., 1978).

Las especies integrantes de la flora acidoláctica, el grupo mayoritario en el queso San Simón da Costa (Prieto y col., 1997) poseen endo y exopeptidasas activas capaces de degradar los péptidos de pequeño y gran tamaño hasta aminoácidos libres (Fox y col., 1993, a).

Se asume que estas enzimas proteolíticas se liberan al medio cuando las células se lisan después de su muerte, Sin embargo, se ha observado mediante técnicas de microscopía electrónica que las células bacterianas permanecen mucho tiempo intactas en el queso, probablemente debido a la estructura del mismo y a la alta concentración de solutos de su entorno acuoso (Fox y Stepaniak, 1993). Esto explicaría el hecho de que la liberación más importante de aminoácidos tenga lugar al final del proceso madurativo (a partir de los 45 días en ambos tipos de queso).

El nitrógeno amoniacal no sufre cambios en ninguno de los lotes estudiados, siendo además cuantitativamente semejante en todos ellos, con la excepción de los quesos artesanales de 60 días, único punto de muestreo en el

que aparecen diferencias significativas ($p < 0,05$) tanto a lo largo de la maduración, como al comparar el que presentan los quesos industriales y artesanales, resultando superior en estos últimos. Esta fracción refleja la capacidad desaminativa sobre los aminoácidos libres de la flora bacteriana y alcanzó valores finales de $0,43 \pm 0,12$ % sobre NT en los artesanales y de $0,26 \pm 0,05$ en los industriales. El cociente $N-NH_2/N-NH_3$ resultó siempre elevado (entre 1,55 y 10,6) lo que corresponde a un queso en cuya maduración participa sobre todo la flora acidoláctica (Lenoir, 1963).

La mayor extensión e intensidad de la proteólisis en los quesos artesanales queda de nuevo patente cuando se identifican y cuantifican las **caseínas** y sus productos de degradación (ver Figuras 36 a y 66 a).

Las primeras bandas que aparecen en los electroferogramas a partir del origen, corresponden a los péptidos denominados γ (γ_1 , γ_2 y γ_3) que presentan una movilidad semejante a las γ - caseínas de la leche. Estos péptidos fueron descritos por Creamer (1970) en quesos Cheddar y Gouda y posteriormente fueron identificados por Creamer (1975). En su mayoría se originan por la acción de la plasmina sobre la β caseína, que es bastante resistente a la quimosina. La β caseína posee entre 15 y 17 enlaces susceptibles de ser hidrolizados por la plasmina, pero ésta actúa fundamentalmente sobre los situados entre los residuos $Lys_{28} - Lys_{29}$, $Lys_{105} - His_{106}$ y $Lys_{107} - Gln_{108}$, dando origen a los péptidos γ , además de otros productos minoritarios. En ambos tipos de quesos la región γ_3 está ocupada por dos bandas que se observan en todas las muestras, la γ_2 posee una sola y la γ_1 también está formada por dos bandas.

La distribución de estos péptidos es similar a la encontrada por Marcos y col. (1979, a) para otros quesos españoles y por Bernardo (1999) para el queso de vaca de León, así como a la observada por Marcos y col. (1979, b) para otros quesos europeos.

A continuación se observa la región de la β caseína que va progresivamente degradándose a medida que transcurre la maduración.

En la zona correspondiente a las α caseínas se observa en primer lugar la α_{s1} formada por dos y en algunos casos tres bandas que se ven más claramente en las muestras al final del proceso madurativo. A continuación, se encuentra una

banda de mayor intensidad que corresponde a la caseína α_{s1-l} que presenta en la parte inferior una banda más estrecha que corresponde al péptido denominado α_{s1-l} (Fox y Guiney, 1973). Esta fracción constituye el primer producto de degradación de la α_{s1} caseína de la leche de vaca que se origina por acción de la quimosina al hidrolizar el enlace peptídico Phe₂₃ – Phe₂₄ (Resmini y col., 1976) o el Phe₂₄ – Val₂₅ (Creamer y Richardson, 1974). Como resultado de esta hidrólisis, se libera un pequeño péptido N-terminal (Hill y col., 1974) que contiene los aminoácidos de la caseína α_{s1} del 1 al 23 y un gran péptido C-terminal, el denominado α_{s1-l} , de mayor peso molecular, que contiene la mayor parte de la secuencia aminoacídica de la caseína α_{s1} (aminoácidos del 24 al 199). Este péptido se acumula en todos los quesos elaborados con leche de vaca y quimosina (Marcos y col., 1979, a; Marcos y col., 1979 b; Resmini y col., 1976).

Finalmente, las bandas de la región inferior, corresponden a las pre α_s caseínas que se originan fundamentalmente a partir del péptido α_{s1-l} por acción de las endopeptidasas de las bacterias acidolácticas.

La β caseína se fue degradando a lo largo de la maduración en los dos tipos de queso alcanzando porcentajes finales de degradación del 30% en los industriales y del 50% en los artesanales. Estos resultados pusieron de manifiesto que en el queso estudiado la β - caseína se degrada más activamente que en otros quesos elaborados con leche de vaca, debido al hecho de que tanto los pHs que se instauran, como la relación S/H son adecuados para la actuación de la plasmina y otras enzimas de la flora acidoláctica. El mayor grado de degradación de la β - caseína en los quesos artesanales puede deberse a que están fabricados con leche cruda y, por tanto, los microorganismos de la flora natural (enterococos, micrococos, etc.) están implicados en la proteólisis.

Las α_s caseínas experimentaron una degradación bastante importante que comenzó a ser significativa a los 7 días de maduración, en ambos tipos de quesos.

Aunque las cantidades de cuajo utilizadas en la elaboración son muy altas y los niveles de sal/humedad que presentan a lo largo de la maduración son favorables para la actuación de la quimosina ésta debe resultar parcialmente inactivada tras el proceso de escaldado, ya que los quesos al final de la

maduración aún poseen caseína α_{s1} sin degradar. Delacroix y Fournier (1992) comprobaron que temperaturas de 52-55°C reducían considerablemente su actividad y Garnot (1985) indicó que incluso temperaturas más bajas, del orden de 40°C producían una cierta inhibición de la misma.

Noomen (1978, b) comprobó que las condiciones más favorables para la actuación del cuajo sobre la caseína α_{s1} se daban a valores de pH en torno a 5 y niveles de S/H del 4%. Thomas y Pearce (1981) comprobaron que en queso Cheddar con un cociente S/H del 4% se degradaba tras un mes de maduración, prácticamente la totalidad de la caseína α_{s1} . En el queso San Simón da Costa resulta degradada en torno a un 60% al final del proceso madurativo (2 meses) en los quesos industriales y alrededor del 76% en los artesanales.

La plasmina que originará fundamentalmente γ caseínas a partir de la caseína β encuentra en estos quesos condiciones adecuadas para su actuación, que según Noomen (1978, a) se produce en un rango de pH entre 5,10 y 5,85 para una relación sal/humedad del 4%. Los porcentajes de γ - caseínas que aparecen al final de la maduración en ambos casos, prácticamente se duplican en relación a la cantidad en que aparecen en las cuajadas.

La intervención de las bacterias lácticas es también muy importante, su acción se caracteriza por la aparición de una gran proporción de nitrógeno amínico y poco nitrógeno amoniacal, es complementaria a la del cuajo y otras proteasas presentes. Además en la maduración de este queso deben contribuir las proteasas de otros microorganismos, ya que los quesos fabricados de modo artesanal presentaron un mayor contenido de aminoácidos libres. Ha sido estudiada en muchas ocasiones la actividad proteolítica de diferentes microorganismos, llegándose a la conclusión de que es poco eficaz frente a la α_{s1} caseína (Visser y Groot Mostert, 1977; Zevaco y Desmazeaud, 1979). Más recientemente, otros autores (Oberg y col., 1986; Farkye y col., 1990; Law y col., 1993) corroboraron la escasa actividad degradativa de la flora acidoláctica sobre las caseínas intactas. Estos últimos autores observaron que en quesos fabricados con iguales cantidades de cuajo y diferentes variedades de lactococos, la proporción de NST al cabo de 6 meses de maduración no variaba. Sin embargo,

la cantidad de N amínico resultaba duplicada en los quesos fabricados con cepas proteínasa (+).

El contenido de **aminoácidos libres** totales aumentó de forma progresiva a lo largo de la maduración, alcanzando valores finales más elevados en los lotes elaborados de forma artesanal ($3139,42 \pm 537,83$ mg/100g ES, frente a $1286,54 \pm 510,28$ mg/100g ES de los industriales). Dado que la liberación de los aminoácidos se debe a las endo y exopeptidasas de origen microbiano, como ya se comentó anteriormente, resulta lógico que los quesos artesanales contengan una mayor proporción de estos compuestos, dada la mayor variedad de la flora que en ellos se instaura al estar fabricados con leche que no ha sido sometida a un tratamiento de pasterización. El aumento que tuvo lugar en las últimas etapas de la maduración indica la existencia de actividades aminopeptidásicas intracelulares, cuya acción va seguida de la lisis celular.

La cantidad total de aminoácidos encontrada en el queso San Simón da Costa al final de la maduración se encuentra dentro del rango descrito para otros quesos de vaca, como el Taleggio (Resmini y col., 1969), el Cheddar (Laleye y col., 1987; Puchades y col., 1989), superior a la determinada en el queso Mahón (Polo y col., 1985) y en el queso Ulloa (Ordóñez y Burgos, 1977, b).

El perfil aminoácido que presentaron ambos tipos de quesos resultó ser prácticamente similar. A pesar de las bajas cantidades de aminoácidos presentes en las cuajadas, la prolina resultó ser el mayoritario, hecho observado por otros autores en otras variedades, como el Taleggio (Resmini y col., 1969), Télémé (Polychroniadou y Vlachos, 1979) y Armada (Fresno y col., 1997).

En los quesos de 60 días predominaron el ácido glutámico, el triptófano y la leucina, que representaron el 43% del total de los aminoácidos existentes en los dos tipos de quesos.

El contenido de ácido γ -aminobutírico (GABA) que procede de la descarboxilación del ácido glutámico (Ismail y Hansen, 1972) fue escaso, lo que no es de extrañar dado que las cantidades de ácido glutámico fueron elevadas en ambos casos.

La arginina, fenilalanina y lisina también se encontraron en proporciones similares, representando el 17% sobre el total de aminoácidos presentes en los quesos industriales y el 24% en los artesanales.

Existen algunas diferencias en relación al contenido que presentaron ambos tipos de quesos en otros aminoácidos, variando las proporciones relativas encontradas, lo que es explicable dado que el perfil aminoacídico es característico para cada variedad de queso y refleja los equilibrios entre la degradación de los péptidos y la degradación e interconversión de los diferentes aminoácidos libres, estando determinada por la naturaleza de la flora presente e implicada en estas reacciones degradativas. El perfil aminoacídico en líneas generales coincide con el hallado para algunos quesos de vaca (Resmini y col., 1969; Ismail y Hansen, 1972; Ordóñez y Burgos, 1977, b; Dilanian, 1980; Burniana y Zeidan, 1982; Laleye y col., 1987; Puchades y col., 1989).

IV.2.6. - Evolución de los parámetros lipolíticos a lo largo de la maduración

Los valores del índice de acidez de la grasa obtenidos para los quesos industriales en todos los puntos de muestreo estudiados, no variaron (Tabla XLVIII). Sin embargo, en los artesanales se produjo un aumento significativo a partir de los 15 días de maduración, (Tabla XXIII) alcanzando cifras finales de $0,61 \pm 0,42$ mg KOH/g de materia grasa) frente a los valores de $0,17 \pm 0,06$ que presentaron los quesos industriales. Estos valores resultaron bastante inferiores a los hallados por otros autores para otros quesos de vaca (Vanbelle y col., 1978; Marcos y col., 1985).

De los valores finales del índice de acidez de la grasa puede concluirse que los fenómenos lipolíticos tienen escasa importancia en el proceso madurativo del queso de San Simón da Costa, lo que es común a todos aquellos en los que interviene fundamentalmente la flora acidoláctica, cuya actividad lipolítica es bastante moderada. Para que su actuación tuviera lugar deberían formarse mono y diglicéridos por la acción de la lipasa nativa de la leche, ya que la actividad de las bacterias lácticas sobre los triglicéridos íntegros es muy limitada (Stadhouders y Veringa, 1973; El Soda y col., 1986). Además, la hidrólisis es lenta y la concentración de ácidos grasos formada es escasa, por lo que su contribución, en

general al aroma del queso no resultará muy pronunciada (Law, 1984, b; Olson, 1990). Por otra parte, el pH óptimo de actuación de la lipasa nativa de la leche se sitúa en torno a 9 (Patel y col., 1968; Richer y Randolph, 1971), lo que también limitará considerablemente su actuación, ya que las condiciones de pH que presentan los quesos están muy alejadas. Existen datos de que en los quesos fabricados con leche cruda la lipólisis es mucho mayor que cuando se utiliza leche pasteurizada (McSweeney y col., 1993, b). A lo largo de la maduración en los quesos industriales no se produjeron cambios ni en el contenido total de ácidos grasos, ni en los valores individuales de los mismos. En los quesos artesanales se incrementaron ligeramente a lo largo de la maduración llegando a representar la suma total al final de la misma aproximadamente el doble que en los quesos de 0 días.

De estas diferencias da cuenta fundamentalmente el ácido butírico que apareció en una proporción muy superior en los quesos artesanales. Sin embargo, las grandes variaciones encontradas entre las distintas muestras hacen muy difícil la comparación. El ácido butírico representó del orden de la mitad del total de los ácidos grasos presentes en los quesos artesanales y alrededor de un 20% en los industriales. Estos valores son altos si se comparan con las cantidades presentes en otros quesos de vaca (Woo y col., 1984; Gómez y col., 1987; de la Fuente y col., 1993). Hay que tener en cuenta que aunque una parte de los ácidos grasos de cadena corta proceden del metabolismo de los hidratos de carbono, los ácidos C_4 y C_6 están en su mayor parte situados en posición s_{n-3} (Christie, 1986; Jenness y Walstra, 1987) que es la que resulta más hidrolizada por las lipasas involucradas en la maduración del queso. Se ha demostrado que las lipasas de *Lactobacillus* y *Lactococcus* (Yu, 1986; Kamaly y Marth, 1989) son específicas para los ácidos grasos de cadena corta. El elevado contenido de ácido butírico también puede estar justificado por el hecho de que no sufrirá una degradación posterior a metilcetonas y otros compuestos finales. La presencia del ácido butírico, por su carácter volátil desempeñará una gran influencia en el aroma del queso, más acentuado en los artesanales..

El ácido oleico ($C_{18:1}$) resultó ser el ácido graso más abundante junto con el C_{16} (palmítico), de lo que también deben ser responsables las lipasas de la flora

acidoláctica (Kamaly y col., 1990). Se há descrito (Yu, 1986) que las lipasas de *Lactobacillus casei* pueden liberar gran cantidad de estos ácidos grasos. Su localización es fundamentalmente citoplasmática, por lo que resulta necesaria la lisis bacteriana para que puedan funcionar. Los micrococos poseen una lipasa intracelular activa a pH 5-6 y actividades estererasas que pueden funcionar liberando ácidos grasos de cadena corta (Bhowmik y Marth, 1990)

Finalmente, el perfil de los ácidos grasos libres, que también es característico de cada tipo de queso coincide básicamente con el hallado para otros quesos de vaca (Thakur y col., 1975; Burgos y Ordóñez, 1978; Woo y col., 1984; Gómez y col., 1987; de la Fuente y col., 1993; Prieto, 1999).

V.- CONCLUSIONES

1.- a) Los parámetros composicionales que definen las principales características de un queso resultaron similares para los quesos elaborados de forma artesanal y los fabricados en las industrias, a excepción del ácido D-láctico, cuyo contenido fue superior en los artesanales. Tanto el contenido graso como proteico está en el límite superior del rango observado para otros quesos elaborados con leche de vaca. Por ello, atendiendo a la clasificación dada por el Código Alimentario Español, este queso se encontraría formando parte del grupo denominado extragrasso.

La cantidad de sal y, consecuentemente, la de cenizas resultó más alta en los quesos industriales, debido a las diferencias en el proceso de salazonado utilizado.

b) Ambos tipos de queso presentan un elevado contenido de calcio y fósforo. De los oligoelementos el más importante cuantitativamente resultó ser el Zn. Las proporciones de Fe, Cu y Mn encontradas fueron inferiores a las halladas para otros quesos de vaca.

c) Los quesos industriales presentan un pH significativamente más alto y más baja la acidez titulable y aunque los valores de a_w fueron inferiores, las diferencias no resultaron significativas .

En resumen, el queso San Simón da Costa es un queso extragrasso, con un bajo contenido en extracto seco, niveles intermedios de actividad del agua, un pH relativamente alto y un elevado contenido de minerales, especialmente Ca y P.

2.- El ritmo de pérdida de agua en el queso San Simón da Costa es muy lento tras la primera semana de maduración, debido a que el proceso de escaldado que sufre favorece la formación de la corteza, originándose una película compacta que además de conferirle un aspecto liso y brillante, dificulta la

salida de agua al exterior, por lo que, a pesar de su pequeño formato, se puede mantener durante tiempos prolongados hasta su venta sin que llegue a secarse excesivamente.

3.- La lactosa, que alcanzó cifras iniciales bastante altas se degrada rápidamente durante los primeros quince días de maduración. El incremento en el contenido de ácido D-láctico coincide con un descenso ligero del ácido L-láctico, lo que podría ser debido a una reacción de racemización. Sin embargo, al final de la maduración las proporciones de ambos ácidos permanecieron estables lo que indica que el ácido L-láctico se debe originar de forma directa a partir de la galactosa por la acción de ciertos microorganismos.

4.- Tanto la extensión como la intensidad de la proteólisis resultaron diferentes en los dos tipos de queso, presentando una mayor degradación de las fracciones nitrogenadas los quesos fabricados de modo artesanal, debido a la mayor variación de la flora que en ellos se instaura. Probablemente, se podrían mejorar las características de los quesos fabricados en las industrias mediante la utilización de variantes de lactococos proteinasa (+).

5.- El contenido de aminoácidos libres totales aumentó de forma progresiva durante la maduración, alcanzando valores finales más elevados en los lotes elaborados de forma artesanal, lo que indica la participación de las endo y exopeptidasas de origen microbiano, dada la mayor variedad de la flora que en ellos se instaura al estar fabricados con leche que no ha sido sometida a un tratamiento de pasterización. Los aminoácidos mayoritarios, en los dos tipos de quesos, fueron el ácido glutámico, el triptófano y la leucina que representaron al 43% del total de los aminoácidos existentes. Las proporciones relativas encontradas para otros aminoácidos fueron diferentes lo que es explicable, dado

que el perfil aminoacídico está también determinado por la naturaleza de la flora presente e implicada en estas reacciones degradativas.

6.- Las reacciones de degradación de los lípidos en el queso San Simón da Costa tienen escasa importancia en el proceso madurativo de este queso, lo que es común a todos aquellos en los que interviene fundamentalmente la flora láctica. Sin embargo, resultaron más acentuadas en los quesos artesanales. El perfil de ácidos grasos libres encontrado fue bastante similar al hallado para otros quesos de vaca, siendo el ácido oleico ($C_{18:1}$), el palmítico (C_{16}) y el butírico (C_4) los ácidos grasos cuantitativamente más importantes, por lo que se puede concluir que las lipasas de la flora acidoláctica son también las responsables de las reacciones lipolíticas.

VI.- BIBLIOGRAFIA

- ABIQ – (1998) Associação Brasileira de Industrias de Queijo
- ADDA, J. (1987). Les mecanismes de formation de la flaveur dans les fromages. En *Milk-The Vital Force*. Ed. D. Reidel Publishing Company.
- ADDA, J.; GRIPON, J.C. y VASSAL, L. (1982). The chemistry of flavour and texture generation in cheese. *Food Chem.* **9**, 115.
- ADDEO F.; GARRO G.; INTORCIA N.; PELLEGRINO L. y CHIANESE L. (1995) Gel electroforesis and immunoblotting for the detection of casein proteolysis in cheese. *J. Dairy Res.* **62**, 297
- ALCALÁ, M.; MARCOS. A.; ESTEBAN, M. A. y MILLAN, R. (1982). Quesos frescos de cabra de Cádiz y MÁLAGA: III. Caseinas y polipéptidos insolubles. *Informacion Técnica Economica Agraria* **1**, 431.
- ALONSO, M. L.; ALVAREZ, A. I.; y ZAPICO, J. (1994). Rapid analysis of free amino acids in infant foods. *J. Liquid Chroma.* **17 (18)**, 4019.
- ANDREWS, A.T. (1983). Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *J. Dairy Res.* **50**, 45.
- ARGUMOSA, O.; CARBALLO, J.; BERNARDO, A. y MARTIN, R. (1992). Chemical characterization of a Spanish artisanal goat cheese (Babia-Laciana variety). *MAN* **10**, 69.
- ARIZCUN, C.; ITULAIN, M.; SALMERON, J. y TORRE, P. (1996). Study of cheeses of Denomination of Origin Roncal and Idiazabal manufactures in Navarra. *Alimentaria*, **274**, 6.
- ARIZCUN, C.; BARCINA, Y. y TORRE, P. (1997). Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus* spp isolated from milk and Roncal and Idiazabal cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, **38 (1)**, 17
- ASTON, J.W. y DULLEY, J.R. (1982). Cheddar cheese flavour. *Aust. J. Dairy Technol.* **37**, 59.
- BARLOW, I.; LLOYD, G.T.; RAMSHAW, E.H.; MILLER, A.J.; McCABE, G.P. y MCCABE, L. (1989). Correlations and changes in flavour and chemical parameters of Cheddar cheeses during maturation. *Aust. J. Dairy Technol.* **44**, 7.
- BARTELS, H. J.; JOHNSON, M. E.; OLSON, N. F. (1987). Accelerated ripening of Gouda cheese. 2. Effect of freeze-shocked *Lactobacillus helveticus* on proteolysis and flavo development. *Milchwissenschaft* **42**, 139.
- BELTRAN, C.; RODRIGUEZ, I; MARTINEZ, M. y BAYES, F. (1993). Estudio sobre el queso tipo Garrotxa o Pell Florida (corteza enmohecida). *ILE* **175**, 37.
- BERNER, G. (1970). The breakdown of sugar during Camembert ripening. Enzymatic determination of D-lactose, D-glucose and D-galactose. *Milchwissenschaft* **25**, 275.
- BHOWMIK, T. y MARTH, E.H. (1988). Protease and peptidase activity of *Micrococcus* species. *J. Dairy Sci.* **71**, 2358.
- BHOWMIK, T. y MARTH, E.H. (1990). Role of *Micrococcus* and *Pediococcus* species in cheese ripening: a review. *J. Dairy Sci.* **73**, 859.
- BOCKELMAN, W., (1995). The proteolytic system of Starter and nom. Starter Bacteria: components and their importance for cheese ripening. *Int. Dairy.J.* **5**, 977.

- BOUDJELLAB, N.; ROLET – REPECAUD, O., y COLLINS, J.C.(1994). Detection of residual chymosin in cheese by an enzyme – linked inmunsorbent assay. *J. Dairy Res.* **61**, 101.
- BOSSET J. O. y GAUCH R. (1993) Comparison of the volatile flavour compunds of six European AOC cheeses by using a new dynnamic headspace GCC-MS method. *Int. Dairy J.* **3**, 359.
- BURGOS, J. y ORDOÑEZ, J. A.(1978). Lipids of Ulloa cheese: evolution along ripening. *Milchwissenschaft* **33**, 555.
- BURNIANA, L. M. y ZEIDAN A. N. (1982). Variation of free aminoacids in Kashkwal “Dalia”cheese during ripening. *Egyptian j. Dairy Sci.* **10**, 209
- C.A.E. (1985). Código Alimentario Español. Vol. VII. Leche y derivados. Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- CARBALLO, J.; FRANCO, I. y PRIETO, B. (1997). Tecnologia especifica de elaboración de los principales quesos españoles. En *Productos Cármicos y lácteos*. Eds. Gonzáles, I.; Otero, A.; Rodríguez, R. y Sanz, J. Celarayn, León, Spain.
- CARBALLO, J.; FRESNO, J.M.; TUERO, J.R.; PRIETO, J.G.; BERNARDO, A. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1994). Characterization and biochemical changes during the ripening of a Spanish hard goat cheese. *Food Chem.* **49**, 77.
- CARRETERO, C.; MOR-MUR, M.; PLA, R. y GUAMIS, B. (1992a). Caracterización físico-química del queso de leche de cabra Cendrat del Montsec. *Rev. Esp. Lech.* **Abril**, 28.
- CARRETERO, C.; MOR-MUR, M.; PLA, R. y GUAMIS, B. (1992b). SDS-PAGE study of pH 4,6 soluble proteins during ripening of goat milk cheese. *Milchwissenschaft* **47**, 292.
- CARRETERO, C.; TRUJILLO, A.; MOR-MUR, M.; PLA, R. y GUAMIS, B. (1992) Estudio de la evolución de las caseínas durante la maduración del queso de cabra << Cendrat del Montsec>>. *Rev. Esp. Lech.* **junio**, 41.
- CARTIER, P.; CHILLIARD, Y. y BOUT, J. (1989). Lipase retribution in cow’s milk during induced lipolysis. II. Activation by milk pH adjustment. *J. Dairy Res.* **56**, 711.
- CASTBERG, H.B. y MORRIS, H.A. (1976). Degradation of milk proteins by enzymes from lactic acid bacteria used in cheese making. *Milchwissenschaft* **31**, 85.
- CENTENO, J. A.; RODRIGUEZ OTERO, J. L. y CEPEDA, A. (1994). Microbiological Study of Arzúa cheese (NWSpain) Throught cheesemaking and Ripening. *J. food Safety* **14**, 229.
- CENTENO, J. A.; CEPEDA, A.; RODRIGUEZ OTERO, J. L. y DOCAMPO, F. (1995). Estudio higiénico – sanitario del queso de Arzúa. *Alimentaria* **263**, 91.
- CENTENO DOMÍNGUEZ, J. A.; MENÉNDEZ FERNANDEZ, S.; RODRIGUEZ OTERO, J. L. y CEPEDA A. (1995 b). Flora láctica del queso del Cebreiro, XV Congreso de la Sociedad Esp. de Microbiol., Madrid, pág 140.
- CHANDER, H.; RANGANATHAN, B. y SINGH, J. (1979). Purification and some properties of lipase from *Streptococcus faecalis*. *J. Dairy Res.* **44**, 1747.
- CHAPOT-CHARTIER, M.P.; DENIEL, C.; ROUSSEAU, M.; VASSAL, L. y GRIPON, J.C.(1994). Autolysis of two starins of *Lactococcus lactis* during cheese ripening. *Int. Dairy J.* **4**, 251.
- CHAVARRI, F. J.; NUÑEZ, J. A.; BANTISTA, L. y NUÑEZ, M.(1985). Factors affecting the microbioloyjcal quality of Burgos and Villalón cheese at the retail level. *J. Food Prot.* **48**, 865.

- CHILLIARD, Y.; SELSELET-ATTOU, G.; BAS, P. y MORAND-FEHR, P. (1984). Characteristics of lipolytic system in goat milk. *J. Dairy Sci.* **67**, 2216.
- CHOISY, C., DESMAZEAUD, M., GRIPON, J.C., LAMBERET, G., LENOIR, J. y TOURNEUR, C. (1990). Los fenómenos microbiológicos y enzimáticos y la bioquímica del afinado. En *El Queso*. Ed. A. Eck, Ediciones Omega, S.A., Barcelona.
- CLANCY, M.; y O' SULLIVAN, M. (1993). Partial purification and characterization of a proteinase from *Brevibacterium linens*. *Ir. J. Agric. Food Res.* **32**, 185.
- COGAN, T.M. (1985). The leuconostocs: milk products. En *Bacterial Starter Cultures in Foods*. Ed. S.E. Gilliland. CRC Press, Boca Raton.
- COGAN, T.M. y DALY, C. (1987). Cheese starters cultures. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 1 General Aspects*. Ed. P.F. Fox, Elsevier Applied Science, London and New York.
- COMPAIRÉ, C. (1966). La fabricación de quesos en Galicia, Vol. VI 117. Comité Nacional Lechero, Madrid.
- CONI, E., BOCCA, A.; IANNI, D. y CAROLI, S. (1995). Preliminary evaluation of factors influencing the trace element content of milk and dairy products. *Food Chem.* **52**, 123.
- CREAMER, L.K. (1970). Protein breakdown in Gouda Cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **5**, 152.
- CREAMER, L.K. (1975). β -casein degradation in Gouda and Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **58**, 287.
- CREAMER, L.K.; GILLES, J. y LAWRENCE, K.C. (1988). Effect of pH on the texture of Cheddar and Colby cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **23**, 23.
- CREAMER, L.K.; LAWRENCE, R.C. y GILLES, J. (1985). Effect of acidification of cheese milk on the resultant Cheddar cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **20**, 185.
- CREAMER, L.K. y RICHARDSON, B. C. (1974). Identification of primary degradation product of α_{s1} -casein in Cheddar cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **9**, 9.
- CZULAK, J.; CONOCHIE, J.; SUTHERLAND, B.J. y VAN LEEUWEN, H.J.M. (1969). Lactose, lactic acid and mineral equilibria in Cheddar cheese manufacture. *J. Dairy Res.* **36**, 93.
- DEETH, H.C. y FITZ-GERALD, C.H. (1983). Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity in milk and milk products. En *Developments in Dairy Chemistry-2*. Ed. P.F. Fox, Applied Science Publishers, London and New York.
- DELACROIX-BUCHET, A. y FOURNIER, F. (1992). Protéolyse et texture des fromages à pâte cuite presée. II. Influence de la chymosine et des conditions de fabrication. *Lait* **72**, 53.
- DELACROIX-BUCHET, A. y TROSSAT, P. (1991). Protéolyse et texture des fromages à pâte cuite presée. I. Influence de l'activité de l'eau. *Lait* **71**, 299.
- DESMAZEAUD, M.J.; GRIPON, J.C.; LE BARS, D. y BERGERE, J.L. (1976). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. III. Influence des micro-organismes (*S. lactis*, *P. caseicolum*, *P. roqueforti*). *Lait* **56**, 79.
- DESMAZEAUD, M.J. y ZEVACO C. (1979). Isolation and general properties of two intracellular aminopeptidases of *S. diacetylactis*. *Milchwissenschaft* **34**, 606.

- DEVENDRA, C. (1972). Composition of milk British Alpine and Anglo-Nubian goats imported into Trinidad. *J. Dairy Res.* **39**, 381.
- DILANIAN Z. C. (1980). Cheese manufacturing by intensified lactic fermentation in milk and melting of the curd. *Milchwissenschaft* **35**, 614.
- DILLON, J.C. (1987). Le fromage dans l'alimentation. In *Le fromage* (Ed. A. Eck). Technique et Documentation Lavoisier. Paris pp: 496.
- DILLON, J.C. (1990). El queso en la alimentación. En *El Queso*. Ed. Omega, Barcelona. España.
- DOLBY, R.M. (1941). The control of acid development in Cheddar cheesemaking. *N. Z. Sci. Technol.* **22**, 289.
- DRIESSEN, F.M. (1989). Inactivation of lipases & proteinases (indigenous & bacterial). *Bul. FIL-IDF* **238**, 71.
- DULLEY, J.R. y GRIEVE, P.A. (1974). Volatile fatty acid production in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* **September**, 120.
- DYBING, S.T.; WIEGAND, J.A.; BRUDVIG, S.A.; HUANG, E.A. y CHANDAN, R.C. (1988). Effect of processing variables on the formation of calcium lactate crystals on Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **71**, 1701.
- EITENMILLER, R.R.; VAKIL, J.R. y SHANANI, K.M. (1970). Production and properties of *Penicillium roqueforti* lipase. *J. Food Sci.* **35**, 130.
- EL-SODA, M. (1993). Accelerated maturation of cheese. *Int. Dairy J.* **3**, 531.
- EL-SODA, M.; BERGERE, J.L. y DESMAZEAUD, M.J. (1978). Detection and localization of peptidase hydrolases in *Lactobacillus casei*. *J. Dairy Res.* **45**, 519.
- EL-SODA, M.; KORAYEM, M. y EZZAT, N. (1986). The esterolytic and lipolytic activities of lactobacilli. III. Detection and characterization of the lipase system. *Milchwissenschaft* **41**, 353.
- ESTEBAN, M. A.; MILLAN, ; ALCALÁ, M. y MARCOS A. (1982). Quesos frescos de cabra de Cádiz y Málaga: II. Actividad del agua y pH *Informacion Técnica Económica Agraria.* **1**, 424.
- EXTERKATE, F.A.; (1995). Lactococcal cell envelope proteinases: Differences, calcium – binding effects and role in cheese ripening. *Int. Dairy J.* **5**, 995.
- EZZAT, N.; EL- SODA, M.; EL-SHAJEL, H. y OLSON, N. F. (1993). Cell Wall associated peptide hydrolase and esterase activities of several cheese related bacteria. *Food Chem.*, **48**, 19.
- FAIRBAIRN, D.J. y LAW, B.A. (1986). Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *J. Dairy Res.* **53**, 139.
- FARKYE, N. y FOX, P.F. (1990). Observations on plasmin activity in cheese. *J. Dairy Res.* **57**, 413.
- FARKYE, N. y FOX, P.F. (1991). Preliminary study on the contribution of plasmin to proteolysis in Cheddar cheese: cheese containing plasmin inhibitor, 6- aminoheptanoic acid. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 786.
- FARKYE, N.; FOX, P.F.; FITZGERALD, G.F. y DALY, C. (1990). Proteolysis and flavor development in Cheddar cheese made exclusively with single strain proteinase-positive or proteinase-negative starters. *J. Dairy Sci.* **73**, 874.

- FARKYE, N.Y.; KIELY, L.J.; ALLSHOUSE, R.D. y KINDSTEDT, P.S. (1991). Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.* **74**, 1433.
- FARKYE, N.Y. y LANDKAMMER, C.F. (1992). Milk plasmin activity influence on Cheddar cheese quality during ripening. *J. Food Sci.* **57**, 622.
- FERNANDEZ, A.; GONZALEZ, A. M.; FUENTES, E.; MESAS, J. y MENDEZ, J. (1990). El Queso del Cebreiro. *ILE* **139**, 43.
- FERNANDEZ-ALBALAT, M. P.; COBOS, A.; FERNANDEZ, M. A. y MENDEZ, J. (1996). Elaboración artesanal del queso "do Cebreiro". *Alimentaria* **278**, 89.
- FERNANDEZ MARTINEZ, M.A .; GONZALEZ SANCHEZ, A .M.; AMOR FERNÁNDEZ, L. y MENDEZ DÓNEGA J. (1990). Queso San Simón. Fabricación y características. Segunda parte. *I.L.E. julio-agosto*, 25.
- FERNANDEZ-SALGUERO, J.; ALCALA, M.; MARCOS, A. y ESTEBAN, M.A. (1986). Measurement and calculation of aw in Blue cheese. *J. Dairy Res.* **53**, 639.
- FERNANDEZ-SALGUERO, J.; BARRETO MATOS, J. y MARSILLA, B.A. (1981). Electroforesis cuantitativa y datos composicionales del queso de Fuerteventura. *Alimentaria* **119**, 71.
- FITZ-GERALD, C.H. y DEETH, H.C. (1983). Factors influencing lipolysis by skim milk cultures of some psychrotrophic microorganisms. *Aust. J. Dairy Technol.* **38**, 97.
- FLORENCE, E.; MILNER, D.F. y HARRIS, W.M. (1984). Nutrient composition of dairy products. I. Cheeses. *J. Soc. Dairy Technol.* **37**, 13.
- FONTECHA, J.; PELAEZ, C.; JUAREZ, M.; REQUENA, T. y GOMEZ, C. (1990). Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *J. Dairy Sci.* **73**, 1150.
- FOX, P.F. (1988). Rennets and their action in cheese manufacture and ripening. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **10**, 522.
- FOX, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *J. Dairy Sci.* **72**, 1379.
- FOX, P.F. y LAW, J. (1991). Enzymology of cheese ripening. *Food Biotechnol.* **5**, 239.
- FOX, P.F., LAW, J., McSWEENEY, P.L.H. y WALLACE, J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 1. General Aspects*. Ed. P.F. Fox, Chapman and Hall, London.
- FOX, P.F.; LUCEY, J.A. y COGAN, T.M. (1990). Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *C.R.C. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **29**, 237.
- FOX, P.F. y McSWEENEY, L. H. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Rev. Int.* **12**, (4), 477.
- FOX, P.F. y STEPANIAK, L. (1993). Enzymes in cheese technology. *Int. Dairy J.* **3**, 509.
- FRANCO, I.; PRIETO, B.; CARBALLO, J. y BERNARDO, A. (1995). Cambios bioquímicos ocurridos durante la maduración de queso de cabra de Babia-Laciana. II Congreso Internacional de Alimentación, Nutrición y Dietética, Sevilla, España, 23.

- FRANCO, I.; PRIETO, B.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J. y GONZALEZ-PRIETO, J. (1996). Estudio de los fenómenos proteolíticos durante la maduración del queso de cabra de Babia-Laciana. Simposium Intern. Los fundamentos de la calidad de los productos típicos mediterraneos de origen animal. Badajoz y Zafra, España, 225.
- FRAU, M.; SIMAL, S.; FEMENIA, A. y ROSELLÓ, C. (1997a). Application of principal component analysis to chemical characteristics of Mahón cheese. *Z. Lebensm. Unters. Forch.* **205**, 429.
- FRAU, M.; MASSANET, J.; ROSELLÓ, C. y CANELLAS, J. (1997b). Evolution of free aminoacid content during ripening of Mahón cheese. *Food Chem.* **60**, 651.
- FRESNO, J. M.; PRIETO, B.; URDIALES, R.; MARTIN SARMIENTO, ROY CARBALLO, J. (1995). Mineral content of some Spanish Cheese varieties. Differentiation by source of milk and by variety from their content of main and trace elements. *J. Sci. Food Agric.* **69**, 339.
- FRESNO, J.M.; TORNADIJO, M.E.; CARBALLO, J. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1994). Caracterización de mohos aislados durante la elaboración y maduración del queso de Armada, variedad sobado. 9º Congreso de Microbiología de los Alimentos, Lérida, 131.
- FRESNO, J.M.; TORNADIJO, M.E.; CARBALLO, J. ;GONZÁLEZ PRIETO J. y BERNARDO A. (1996) Characterization and some biochemical changes during the ripening process of a Spanish craft goat's milk cheese. *Food Chem.* **55**, 225.
- FRESNO, J.M.; TORNADIJO, M.E.; CARBALLO, J. ; BERNARDO A. y GONZÁLEZ PRIETO J (1997) Proteolytic and lipolytic changes during the ripening of Spanish craft goat cheese (Armada variety). *J. Sci. Food Agric.* **75**, 148.
- FRITSCH, R. J.; MARTENS, F. y BELITZ, H. D. (1992). Monitoring Cheddar cheese ripening by chemical indices of proteolysis. I. Determination of free glutamic acid, soluble nitrogen and liberated amino groups. *Z. Lebensm. Unters. Forch.* **194**, 330.
- FROUFE, M. (1998). Estudio de la composición química global, parámetros físico-químicos y fracciones nitrogenadas durante la maduración del queso D. O. Tetilla. Proyecto Fin de Carrera de Ingeniería Técnica Agrícola. Universidad de Vigo. Orense.
- FUENTE, de la M.A.; FONTECHA, J. y JUAREZ, M. (1993). Fatty acid composition of the triglyceride and fatty acid fractions in different cows, ewes and goats milk cheeses. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **196**, 155.
- FUENTE, de la M.A. y JUAREZ, M. (1993) Determinación de ácidos grasos libres en productos lácteos. *Rev. Esp. Cienc. Technol. Aliment.* **33**, 247.
- FURTADO, M.M y LOURENÇO, J.P. (1994) Tecnologia de Queijos – Manual Técnico para a Produção Industrial de Queijos – 1ª Ed., Editora Dipemar Ltda. S.P
- GARCIA, M. C.; OTERO, A.; GARCIA, M. L.; y MORENO, B.(1987). Microbiological quality and composition of two types of Spanish sheep's milk cheeses. (Manchego and Burgos Varieties). *J. Dairy Res.*, **54**, 551.
- GARCIA ARGUMOSA, D. (1991). "Estudio del queso de Babia-Laciana". *Tesina de Licenciatura*. Fac. Vet. Univ. León. Spain.
- GARCIA DE FERNANDO, G.D. y FOX, P.F. (1991). Extracellular proteinases from *Micrococcus GF*. II. Isolation and characterization. *Lait* **71**, 371.

- GARCIA DE FERNANDO, G.D.; SANZ, B.; ASENSIO, M.A. y ORDOÑEZ, J.A. (1992). Effect of extracellular proteinase of *Enterococcus faecalis* subsp. liquefaciens on protein breakdown in cheese. *Milchwissenschaft* **47**, 420.
- GARCIA PALMER F. J.; SERRA, N.; PALOU, A. y GIANOTTI, M. (1997) Free amino acids as indices of Mahón cheese ripening. *J. Dairy Sci.* **80**, 1908.
- GARCIA, H. S.; REYES, H. R.; MALCATA, F. X.; HILL Jr, C.G. y AMUNDSON, C. H. (1990). Determination of the major free fatty acids in milkfat using a three-component mobile phase for HPLC analysis. *Milchwissenschaft* **45**, 757.
- GARRIDO, M.P.; BARNETO, R. y QUINTANA, M. A. (1991) Microbiological and physico-chemical study of Aracena Cheese (Microbial aspects). *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **13**, 173.
- GARRIDO, M.P.; IÑIGO, B. y BARCENILLA, J. M. (1991) Microbiological and physico-chemical study of Aracena cheese yeast microflora. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm* **13**, 4.
- GARRIDO, M.P.; QUINTANA, M. A y BARNETO, R. (1993)) Microbiological and physico-chemical study of goat's cheese. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm* **15 (1/2)**, 11.
- GARNOT, P. (1985). Heat stability of milk clotting enzymes, technological consequences. *IDF* **194**, 3.
- GIANGIACOMO, R.; IAMETI, S. y BONOMI, F. (1993). Modificazioni molecolari delle proteine nel corso della maturazione di Taleggio e Quattroirolo. *Sci. Tec. Latt. Cas.***44**, 106.
- GODINHO, M. y FOX, P.F. (1981). Ripening of blue cheeses. Influence of salting rate on lipolysis and carbonyl formation. *Milchwissenschaft* **36**, 476.
- GOMEZ, R.; FERNANDEZ-SALGUERO, J. y MARCOS, A. (1987). Composición en ácidos grasos libres y combinados de algunas variedades de quesos comerciales. *Grasas y Aceites* **38**, 23.
- GOMEZ, R.; FERNANDEZ-SALGUERO, J. y SANJUAN, E. (1991). Caracterización química del queso Palmero. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **31/2**, 187.
- GONZALEZ – CRESPO, J. y MAS MAYORAL, M. (1992) Inhibición de enterobacteriáceas por H₂O₂ fermento acidificante y NaCl en la fabricación de quesos de los Ibores con leche cruda. *Alimentaria*, enero-febrero **92**, 51.
- GONZALEZ – CRESPO, J. y MAS MAYORAL, M. (1993) Estudio del empleo de fermentos iniciadores autóctonos en la elaboración de queso de cabra de pasta prensada, con leche pasteurizada. *Alimentaria*, junio **93**, 51.
- GONZALEZ DE LLANO, D.; RAMOS, M.; RODRIGUEZ, A.; MONTILLA, A. y JUAREZ, M. (1992). Microbiological and physicochemical characteristics of Gamonedo blue cheese during ripening. *Int. Dairy J.* **2**, 121.
- GONZALEZ DE LLANO, D.; POLO, M. C. y RAMOS M. (1995) Study of proteolysis in artisanal cheeses: high performance liquid chromatography of peptides. *J. Dairy Sci* **78**, 1018-1024.
- GRAPPIN, R.; RANK, T.C. y OLSON, N.F. (1985). Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. A review. *J. Dairy Sci.* **68**, 531.
- GRIPON, J.C. (1987). Mould-ripened cheeses. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 2. Major Cheese Groups. Ed. P.F. Fox, Elsevier Applied Science, London and New York.

- GRIPON, J.C.; DESMAZEAUD, M.J.; LE BARS, D. y BERGERE, J.L. (1975). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la presure commerciale. *Lait* **55**, 502.
- GRIPON, J.C.; DESMAZEAUD, M.J.; LE BARS, D. y BERGERE, J.L. (1977). Role of proteolytic enzymes of *Streptococcus lactis*, *Penicillium roqueforti* and *Penicillium caseicolum* during cheese ripening. *J. Dairy Sci.* **60**, 1532.
- GRIPON, J. C.; MONNET, V.; LAMBERT, G. y DESMAZEUD, M. J. (1991). Microbial enzymes in cheese ripening. In "Food Enzymology", Vol. 1 (P. F. Fox ed.,) Elsevier Appl. Sci, Publ., London 131.
- GRUFFERTY, M.B. y FOX, P.F. (1988). Milk alkaline proteinase. *J. Dairy Res.* **55**, 609.
- GUEGEN, L. (1979). Mineral composition of cheeses *Cah.Nutr. Diet.*, **14**, 213.
- GUINEE, T.P. y WILKINSON, M.G. (1992). Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture. *J. Soc. Dairy Technol.* **45**, 94.
- GUTIERREZ, L. M., CARBALLO, J., VIDAL, I., GONZALEZ PRIETO, J., MARTIN SARMIENTO, R. y BERNARDO, A. (1988). Evolución de los principales grupos de microorganismos durante la elaboración y maduración del queso de Valdeteja. *An.Fac. Vet. León*, **34**, 119.
- HA, J.K. y LINDSAY, R.C. (1991). Volatile branched-chain fatty acids and phenolic compounds in aged Italian cheese flavors. *J. Food Sci.* **56**, 1241.
- HA, J.K. y LINDSAY, R.C. (1993). Release of volatile branched-chain and other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases. *J. Dairy Sci.* **76**, 677.
- HARDY, J. (1990). La actividad del agua y el salado de los quesos. En: El Queso, Eck, A. Ediciones Omega, S. A., Barcelona.
- HAYASHI, K.; CLIFFE, A.J. y LAW, B.A. (1990). Purification and preliminary characterization of five serine proteinases produced by *Brevibacterium linens*. *Int. J. Food Sci. Technol.* **25**, 180.
- HERRERO, L.(1992). "Los quesos españoles y sus posibilidades de exportación a la CEE. *Rev. Esp. De Lechería - MARZO*, **46** - 48.
- HERRERO, L. (1996). Los quesos tradicionales en España: situación actual y nuevas tendencias. En Jornadas Científicas europeas sobre Tradición y Modernidad de la Industria quesera, Pamplona, **30**.
- HOLMES, D.G.; DUERSCH, J.W. y ERNSTROM, C.A. (1977). Distribution of milk clotting enzymes between curd and whey and their survival during Cheddar cheese making. *J. Dairy Sci.* **60**, 862.
- ICHISHIMA, E.; KAWAI, Y.; TAKENCHI, M. y AHIKO, K. (1986). Initial cleavage site of the oxidized insulin B-chain by a ribosomal proteinase from *S. lactis*, a food microorganism. *Curr. Microbiol.* **13**, 47.
- ISMAIL, A.A. y HANSEN, K. (1972). Accumulation of free amino acids during cheese ripening of some types of Danish cheese. *Milchwissenschaft* **27**, 556.
- JARRET, W.D. (1979). A review of the important trace elements in dairy products. *Aust. J. Dairy Technol.* **34**, 28.

- JUAREZ, M. y MARTINEZ-CASTRO, I. (1979). Determinación de sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso en leche de mercado, por espectrofotometría de absorción atómica. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **19**, 45.
- JUAREZ, M. y MARTIN-HERNANDEZ, M.C. (1983). Contenido de elementos minerales en quesos del mercado español, determinados por espectrofotometría de absorción atómica. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **23**, 417.
- KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D. y ALICHANIDIS, A. (1984). Effect of refrigerated storage of milk on the manufacture and quality of Teleme cheese. *J. Dairy Res.* **51**, 629.
- KAMALY, K.M. y MARTH, E.H. (1989). Enzyme activities of lactic streptococci and their role in maturation of cheese: a review. *J. Dairy Sci.* **72**, 1945.
- KAMALY, K.M.; TAKAYAMA, K. y MARTH, E.H. (1990). Acylglycerol acylhydrolase (lipase) activities of *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and their mutants. *J. Dairy Sci.* **73**, 280.
- KAMINOGAWA, S.; MIZOBUCHI, H. y YAMANCHI, K. (1972). Comparison of bovine milk protease with plasmin. *Agr. Biol. Chem.* **36**, 2163.
- KAMINOGAWA, S.; YAMAUCHI, K.; MIYAZAWA, S. y KOGA, Y. (1980). Degradation of casein components by acid protease of bovine milk. *J. Dairy Sci.* **63**, 701.
- KARAHADIAN, C. y LINDSAY, R.C. (1987). Integrated roles of lactate, ammonia and calcium in texture development of mold surface-ripened cheese. *J. Dairy Sci.* **70**, 909.
- KELLY, A. L. (1995) Variations in total and differential milk somatic cell counts and plasmin levels and their role in proteolysis and quality of milk and cheese, PhD. Thesis, National University of Ireland, Cork.
- KINSELLA, J.E. y HWANG, D.H. (1977). Enzymes of *Penicillium roqueforti* involved in the biosynthesis of cheese flavor. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **8**, 191.
- KUKSIS, A.; MARAI, L. y MYHER, J.J. (1973). Triglyceride structure of milk fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **50**, 193.
- LAFUENTE, M. (1993). Caracterización bioquímica de los quesos artesanos españoles: Pasiego fresco y Cebreiro. *Tesina de Licenciatura Fac. Veterinaria. Uni. León.*
- LAFUENTE, M.; CARBALLO, J.; GONZALEZ PRIETO, J. y MARTIN SARMIENTO, R. (1995). Biochemical characteristics of two types of unrip e Spanish cow's milk cheese (Cebreiro and Pasiego varieties). *Food Chem.* **52**, 23.
- LALEYE, L.C.; SIMARD, R.E.; GOSSELIN, C.; LEE, B.H. y GIROUX, R.N. (1987). Assessment of Cheddar cheese quality by chromatographic analysis of free amino acids and biogenic amines. *J. Food Sci.* **52**, 303.
- LAMBERET, G. y LENOIR, J. (1976). Les caractères du système lipolytique de l'espece *Penicillium caseicolum*, nature du système. *Lait* **56**, 119.
- LAMBERET, G. y MENASSA, A. (1983). Détermination et niveau des activités lipolytiques dans les fromages à pâte persillée. *Lait* **63**, 333.
- LANGSRUD, T.; EINBOLD, G.W. y HAMMOND, E.G. (1978). Free proline production by strains of propionibacteria. *J. Dairy Sci.* **61**, 303.

- LAU, K. Y.; BARBANO, D. M. y RASMUSSEN, R.R. (1991). Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in cheddar cheese during aging. *J. Dairy Sci.* **74**, 727.
- LAW, B.A. (1984a). Microorganisms and their enzymes in the maturation of cheeses. *Progress in Industrial Microbiology* **19**, 245.
- LAW, B.A. (1984b). Flavour development in cheeses. En *Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*. Ed. F.L. Davies and B.A. Law. Elsevier Appl. Sci. Publ.
- LAW, J.; FITZGERALD, G.F.; UNIACKE-LOWE, T.; DALY, C. y FOX, P.F. (1993). The contribution of Lactococcal starter proteinases to proteolysis in Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **76**, 2455.
- LAW, J.; y HAANDRIKMAN, A. (1996). Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* **7**, 1.
- LAW, B.A. y KOLSTAD, J. (1983). Proteolytic systems in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* **49**, 225.
- LAW, B.A.; SHARPE, E. y CHAPMAN, H.R. (1976). The effect of lipolytic Gram-negative psychrotrophs in stored milk on the development of rancidity in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* **43**, 459.
- LAWRENCE, R.C.; CREAMER, L.K. y GILLES, J. (1987). Texture development during cheese ripening. *J. Dairy Sci.* **70**, 1748.
- LAWRENCE, R.C. y GILLES, J. (1969). The formation of bitterness in cheese: a critical evaluation. *N. Z. J. Dairy Sci. Techn.* **4**, 189.
- LAWRENCE, R.C.; GILLES, J. y CREAMER, L.K. (1983). The relationship between cheese texture and flavour. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **18**, 175.
- LE BARS, D. y GRIPON, J.C. (1989). Specificity of plasmin towards bovine α_{s2} -casein. *J. Dairy Res.* **56**, 817.
- LE BARS, D. y GRIPON, J.C. (1993) Hydrolysis of α_{s1} -casein by bovine plasmin. *Lait*, **73**, 337.
- LE MENS, P. (1991). Propiedades físico-químicas, nutricionales y químicas. En *Leche y productos lácteos. Vol. 1. La leche de la mama a la lechería*. Ed. F.M. Luquet, J. Keilling y R. de Wilde. Ed. Acribia, Zaragoza.
- LEMIEUX, L. y SIMARD, R.E. (1991). Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. *Lait* **71**, 599.
- LEMIEUX, L. y SIMARD, R.E. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification structure masking and inhibition. *Lait* **72**, 335.
- LENOIR, J. (1963). Note sur la composition en matières azotées des fromages affinés de Camembert, Saint-Paulin et Gruyère de Comté. *Ann. Technol. Agri.* **12**, 51.
- LESAGE, L.; VOILLEY, A.; LORIENT, D. y BEZARD, J. (1993). Sodium chloride and magnesium chloride affected by ripening of Camembert cheese. *J. Food Sci.* **58**, 1303.
- LINCHSTEIN, H.C. y OGINSKY, E.L. (1965). *Experimental microbial physiology*. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 2.
- LÓPEZ DÍAZ, T. M.; ALONSO CALLEJA, C.; SANZ, J.J.; SANTOS, J. A. y GARCÍA, M. L. (1994) Tipificación del queso azul de Valdeón artesanal. *Ver. Esp. Lech.* **61**, 35.

- LÓPEZ DÍAZ, T.M.; ALONSO, C.; SANTOS, J.; GARCÍA, M. L. y MORENO, B. (1995a). Microbiological changes during manufacture and ripening of naturally ripen blue cheese (Valdeón, Spain), *Milchwissenschaft* **50**, 381.
- LÓPEZ DÍAZ, T.M.; ROMÁN BLANCO, C.; GARCIA ARIAS, M.T.; GARCIA FERNÁNDEZ, M.C. y GARCIA LÓPEZ M.L. (1996). Mycotoxins in two Spanish cheese varieties. *Int. J. Food Microbiology*, **30**, 391.
- LÓPEZ DÍAZ, T.M.; SANTOS, J. A. ; GONZÁLEZ, C. J.; MORENO, B. y GARCÍA, M. L. (1995 b). Bacteriological quality of a traditional Spanish blues cheese. *Milchwissenschaft* **50**, 503.
- LÓPEZ DÍAS, T.M.; SANTOS, J. A. ; PRIETO, M.; GARCÍA, M.L. y OTERO, A. (1995) Mycoflora of a traditional Spanish blues cheese. *Neth. Milk Dairy J.*, **49**, 191..
- LÓPEZ FANDIÑO R.; MARTIN ÁLVAREZ P. J.; PUEYO E. y RAMOS M. (1994). Proteolysis assesmentof several cheese varieties using different methods. *Milchwissenschaft* **49**, 315.
- LORIENT, D.Y LINDEN, G. (1976). Dephosphorylation of bovine casein by milk alkaline phosphatase. *J. Dairy Res.* **43**, 19.
- LUCEY, J.A. y FOX, P.F. (1993). Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review. *J. Dairy Sci.* **76**, 1714.
- MANNING, D.J. (1979 a). Cheddar cheese flavour studies. II. Relative flavour contributions of individual volatile components. *J. Dairy Res.* **46**, 523.
- MANNING, D.J. (1979 b). Chemical production of essential Cheddar flavour compounds. *J. Dairy Res.* **46**, 531.
- MAPA (1990) Catálogo de Quesos Españoles. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Gráficas Policrom S.A.. Madrid.
- MAPA. (1994). Anuario de Estadística Agraria 1991. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- MARCOS, A.; ALCALA, M.; FERNÁNDEZ SALGUERO, J. y ESTEBAN, M. A. (1979 a). Estudio electroforético comparativo de algunos quesos españoles. *Arch. Zootec.* **28**, 123.
- MARCOS, A.; ALCALA, M.; LEON, F.; FER'NANDEZ-SALGUERO, J. y ESTEBAN, M. A. . (1981). Water activity and chemical composition of cheese. *J. Dairy Sci.*, **64**, 622.
- MARCOS, A.; ESTEBAN, M.A. y FERNANDEZ-SALGUERO, J.. (1976a). Influencia de diversos factores químicos y físicos en la proteolisis de las caseínas del queso. *Arch. Zootec.* **25**, 73.
- MARCOS, A.; ESTEBAN, M.A. ; FERNANDEZ-SALGUERO, J.; MORA, M. T. y MILLÁN, R. (1976b). Compuestos nitrogenados en queso Manchego I. Análisis químico de las principales fracciones. *Arch. Zootec.* **28**, 57.
- MARCOS, A.; ESTEBAN, M. A. y FERNANDEZ - SALGUERO, (1979 b). Electrophoretic patterns of european cheeses: comparison and quantitation. *J. Dairy Sci.* **62**, 892.
- MARCOS, A. ; ESTEBAN, M. A.; ALCALÁ, M. y MILLAN, R. (1983 b) Prediction of water activity of San Simón cheese. *J. Dairy Sci.* **66**, 909.
- MARCOS, A.; MILLAN, R.; ESTEBAN, M.A.; ALCALÁ, M. y FERNANDEZ-SALGUERO, J. (1983c). Chemical composition and water activity of Spanish cheeses. *J. Dairy Sci.* **66**, 2488.

- MARCOS, A.; FERNANDEZ-SALGUERO, J.; ESTEBAN, M.A.; LEÓN, F.; ALCALÁ, M. y BELTRAN DE HEREDIA, F.H. (1984a). El queso de los Ibores: composición química, valor nutritivo y estabilidad. *ILE* **64**, 15.
- MARCOS, A.; FERNANDEZ-SALGUERO, J.; ESTEBAN, M.A.; LEÓN, F.; ALCALÁ, M. y BELTRAN DE HEREDIA, F.H. (1984b). El queso de Badaia. Tablas de composición química, valor nutritivo y estabilidad. *ILE* **65-66**, 21.
- MARCOS, A.; FERNANDEZ - SALGUERO, J.; ESTEBAN, M. A.; LEÓN, F.; ALCALÁ, M. y BELTRÁN de HEREDIA, F. H. (1985). Quesos Españoles: Tablas de composición, valor nutritivo y estabilidad. Serv. Publ. Univ. Córdoba. España.
- MARCOS, A. y MORA, M.T. (1982). Proteolisis del queso manchego: evolución de los aminoácidos libres. *Arch. Zootec.* **31**, 115.
- MARGOLLES, A.; RODRIGUEZ, A. y REYES GAVILLÁN, C. G. (1996). Some chemical and bacteriological characteristics of regional cheeses from Asturias, Spain. *J. Food Prot.* **59**, 509.
- MARGOLLES, A.; MAYO, B. y REYES GAVILLÁN, C.G. (1998) Polimorphism of *Listeria monocitogenes* and *Listeria innocua* strains isolated from short-ripened cheeses. *J. Appl. Microbiol.* **84**, 255.
- MARTIN-HERNANDEZ, M.C. (1991). Proteasas y lipasas de la leche. Enzimas termorresistentes de bacterias psicrótrofas y su efecto en la leche y productos lácteos. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* **31**, 1.
- MARTIN-HERNANDEZ, M.C.; AMIGO, L.; MARTIN-ALVAREZ, P.J. y JUAREZ, M. (1992 a). Differentiation of milks and cheeses according to species based on the mineral content. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **194**, 541.
- MARTÍNEZ MORENO, J. L. y NÚÑEZ, M. (1976). Flora microbiana del queso Manchego II. Evolución de la flora microbiana de los quesos manchegos industriales. *Anal. INIA* **4**, 33-40.
- MAS MAYORAL, M.; TIMON ESTEBAN, J. y GONZALEZ CRESPO, J. (1991). Queso de los Ibores: caracterización productiva, físico-química y microbiológica. *Arch. Zootec.* **40**, 103.
- MAS MAYORAL, M. y GONZALEZ- CRESPO, J. (1992) Bacterias lácticas en el queso de las Ibores. *Alimentaria*, marzo **92**, 41.
- MAS MAYORAL, M. y GONZALEZ- CRESPO, J. (1993) Control de microorganismos patógenos en queso de los Ibores. *Alimentaria*, marzo **93**, 41.
- MATCHES, J.R. y LISTON, J. (1968). Low temperature growth of Salmonella. *J. Food Sci.* **33**, 641.
- MATHENSON, A.R. (1981). The immunological determination of chymosin activity in cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Techn.* **16**, 33.
- McSWEENEY, P.L.H.; FOX, P.F. y LAW, J. (1993a). Contribution of cell wall-associated proteinases of Lactococcus to the primary proteolysis of β -casein in Cheddar cheese. *Milchwissenschaft* **48**, 319.
- McSWEENEY, P.L.H.; FOX, P.F.; LUCEY, J.A.; JORDAN, K.N. y COGAN, T.M. (1993b). Contribution of indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* **3**, 613.

- McSWEENEY, P.L.H.; OLSON, N.F.; FOX, P.F.; HEALY, A. y HØJRUP, P. (1993c). Proteolytic specificity of chymosin on bovine α 1-casein. *J. Dairy Res.* **60**, 401.
- McSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F, y OLSON, N. F.(1995). Proteolysis of bovine caseins by cathepsin D: Preliminary observations and comparison with chymosin. *Int. Dairy J.* **5**, 321.
- MEDINA, M.; GAYA, P. y NUÑEZ, M. (1992). Gredos goat's milk cheese: microbiological and chemical changes throughout ripening. *J. Dairy Res.* **59**, 563.
- MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLÉN, A. M. y NUÑEZ, M. (1992). Characteristics of Burgos and Hispanico cheese manufactured with calf rennet or with recombinant chymosin. *Food Chem.* **45**, 85.
- MERCASA. (1995). Inventario español de productos tradicionales de la tierra. En: *Alimentos de España. Denominaciones de origen y calidad*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación - MERCASA, Madrid, 379.
- MILLÁN, R., ALCALÁ, M. Y SANJUAN, E. (1990). Componentes fisicoquímicos del queso de Burgos. *Alimentaria* **218**, 36.
- MILLÁN, R.; ALCALÁ, M.; SANJUAN, E. y CASTELO, M. (1991). "Queso de Villalón": composición química y componentes nitrogenados. *Alimentaria* **octubre**, 57.
- MILLÁN, R.; SANJUAN, E., CASTELO, M., CARDONA, A., PENEDO, J.C. y SALAZAR, A. (1992). Contribución al estudio físico-químico y microbiológico del queso de la Gomera. En Proc. II Congreso Internacional de Química de la ANQUE. Vol. I., Burgos, 553.
- MILLÁN, R.; SAAVEDRA P.; SANJUAN, E. y CASTELO, M. (1996). Application of discriminant analysis to physicochemical variables for characterizing Spanish cheeses. *Food Chem.* **55**, 189.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA. (1990). *Catálogo de quesos españoles*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- MONNET, V., CHAPOT - CHARTIER, M. P. y GRIPON, J. C., (1993). Les peptidases des lactocoques. *Lait* **73**, 97.
- MOR-MUR, M.; CARRETEIRO, C.; PLA, R. y GUAMIS, B. (1992) A survey on the microbiological quality of a semi-soft on farm manufactures goat cheese. *Food Microbiology*, **9**, 345.
- MOR-MUR, M.; CARRETEIRO, C.; PLA, R. y GUAMIS, B. (1994). Microbiological changes during oof Cendrat del Montsec, a goat's milk cheese. *Food Microbiology*, **11**, 177.
- MORO, R.; ALV-BARTOLOMÉ, M.L.; DIÉZ, M.E.; FERNANDEZ. M.T. y GARCIA, M.J. (1992). Composición de quesos artesanos y semiartesanos del Principado de Asturias . I. Quesos de Cabrales, Gamonedo, Los Beyos y Casín. *Alimentaria*, nov. **92**, 51.
- MORO, R.; ALV-BARTOLOMÉ, M.L.; FERNANDEZ. M.T. y GARCIA, M.J.; CUESTA , M.J.; VARGAS, A . DIÉZ, M.E.; (1992) Composición de quesos artesanos y semiartesanos del Principado de Asturias . II. Quesos elaborados en los Consejos de Pañamellera Baja y Pañamellera Alta. *Alimentaria*, diciembre. **92**, 31.
- MORO, R.; ALV-BARTOLOMÉ, M.L.; GARCIA, M.J. ; CUESTA , M.J.; LOPÉZ, J.A.; VARGAS, A . y FERNANDEZ., M.T. (1993 a) Composición de quesos artesanos y semiartesanos del Principado de Asturias. III. Quesos elaborados en el Consejo de Llanes. *Alimentaria*, junio **93**, 55.

- MORO, R.; ALV-BARTOLOMÉ, M.L.; GARCIA, M.J. ; CUESTA , M..J.; LOPÉZ, J.A.; VARGAS, A . y FERNANDEZ., M.T. (1993b) Composición de quesos artesanos y semiartesanos del Principado de Asturias. IV. Quesos elaborados en la zona central de Asturias : Afuega'l Pitu, Madelva, La Peral, tipo Urbies. *Alimentaria*, sept. **93**, 81.
- MORO, R.; ALV-BARTOLOMÉ, M.L.; LOPÉZ, J.A.; CUESTA , M..J.; VARGAS, A . y FERNANDEZ., M.T. y DíEZ. M. E. (1994) Composición de quesos artesanos y semiartesanos del Principado de Asturias. V. Quesos de la zona occidental; Abredo, Carballo, Oscos, Valdesano y xinestooso. *Alimentaria*, marzo **94**, 39.
- MUIR, D. D.; HUNTER, E. A. y WATSON, M. (1995). Aroma of cheese. I. Sensory characterization. *Milchwissenschaft* **50**, 499.
- MULVIHILL, D.M. y FOX, P.F. (1978). Proteolysis of β -casein by chymosin: influence of pH, urea and ClNa. *Ir. J. Food Sci. Technol.* **2**, 135.
- MUSET, G.; MONNET, V. y GRIPON, J.C. (1989). Intracellular proteinase of *Lactococcus lactis* NCDO 763. *J. Dairy Res.* **56**, 765.
- NAJERA, A.I.; BARRON, L.J.R. y BARCINA, Y. (1994). Changes in free fatty acids during the ripening of Idiazabal cheese: influence of brining time and smoking. *J. Dairy Res.* **61**, 281.
- NAKAE, T. y ELLIOTT, J.A. (1965a). Volatile fatty acids produced by some lactic acid bacteria. I. factors influencing production of volatile fatty acids from casein hydrolysate. *J. Dairy Sci.* **48**, 287.
- NAKAE, T. y ELLIOTT, J.A. (1965b). Production of volatile fatty acids by some lactic acid bacteria II. Selective formation of volatile fatty acids by degradation of amino acids. *J. Dairy Sci.* **48**, 293.
- NELSON, J.H.; JENSEN, R.G. y PITAS, R.E. (1976). Pregastric esterase and other lipases. A review. *J. Dairy Sci.* **60**, 327.
- NOLL, F. (1974). D-lactic acid L-lactic acid. En *Methods of Enzymatic Analysis*, vol 33. Ed. H.U. Bergmeyer. Verlag Chemie, Weinheim Academic Press, Inc., New York, 1475.
- NOOMEN, A. (1975). Proteolytic activity of milk protease in raw and pasteurized cow's milk. *Neth. Milk Dairy J.* **29**, 153.
- NOOMEN, A. (1978a). Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheeses (Meschanger type). 1. Activity of milk protease. *Neth. Milk Dairy J.* **32**, 26.
- NOOMEN, A. (1978b). Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheeses (Meschanger type). 2. Activity of calf rennet. *Neth. Milk Dairy J.* **32**, 49.
- NOOMEN, A. (1983). The role of the surface flora in the softening of cheeses with a low initial pH. *Neth. Milk Dairy J.* **37**, 229.
- NÚÑEZ, M. y MARTINEZ MORENO. J. L. (1976). Flora microbiana del queso Manchego I. Evolución de la flora microbiana de quesos manchegos artesanales. *Anal. INIA* , **4**, 25.
- NÚÑEZ, M.; CHAVARRI, F. J.; GARCIA B. E. Y GAYTAN L. E. (1986). The effect of lactic starter inoculation and storage temperature on the behavior of *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacal* in Burgos cheese. *Food Microbiol.* **3**, 235.
- OBERG, C.J.; DAVIS, L.H.; RICHARDSON, G.H. y ERNSTROM, C.A. (1986). Manufacturing of Cheddar cheese using proteinase-negative mutants of *Streptococcus cremoris*. *J. Dairy Sci.* **69**, 2975.

- O'KEEFFE, R.B.; FOX, P.F. y DALY, C. (1975). Proteolysis in Cheddar cheese: influence of the rate of acid production during manufacture. *J. Dairy Res.* **42**, 111.
- O'KEEFFE, R.B.; FOX, P.F. y DALY, C. (1976). Contribution of rennet and starter proteases to proteolysis in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* **45**, 97.
- O'KEEFFE, R.B.; FOX, P.F. y DALY, C. (1978). Proteolysis in Cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria. *J. Dairy Res.* **45**, 465.
- OLIVECRONA, T. (1979). Biochemical aspects of lipolysis in bovine milk. *IDF Doc.* **A-43**, 18.
- OLLIKAINEN, P. y NYBERG, K. (1988). A study of plasmin activity during ripening of Swiss-type cheese. *Milchwissenschaft* **43**, 497.
- OLSON, N.F. (1990). The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor. *FEMS Microbiology Reviews* **87**, 131.
- ORIA, R. (1986). El queso Roncal: aspectos bioquímicos de su proceso madurativo. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. Zaragoza
- ORIA, R.; CONDON, S. y SALA, T.F. (1987). Headspace profiles sampling and recording method for cheese. *Milchwissenschaft*, **42 (11)**, 713.
- ORDOÑEZ, J. A.; BARNETO, R. y RAMOS, M. (1978). Studies in Manchego cheese ripened in olive oil. *Milchwissenschaft* **33**, 609- 612.
- ORDOÑEZ, J.A. (1974). Microbiología y bioquímica del queso tipo "Ulloa" y preparación de un fermento para su elaboración a partir de leche pasteurizada. Tesis Doctoral. Ed. Facultad de Veterinaria, León.
- ORDOÑEZ, J. A. y BURGOS, J. (1977 a). Etude de la variété de fromage Ulloa. I. Evolution de la flora microbienne et des composants azotés au cours de la maturation. *Lait* **57**, 150.
- ORDOÑEZ, J. A. y BURGOS, J. (1977 b). Etude de la variété de fromage Ulloa. III. Acides aminés libérés pendant la maturation. *Lait* **57**, 416.
- ORDOÑEZ, J.A. y BURGOS, J. (1980). Free amino acids of Manchego cheese ripened in olive oil. *Milchwissenschaft* **35**, 69.
- ORDOÑEZ, J.A.; MASSO, J. A .; MARMOL, M.P. y RAMOS, M. (1980). Study of the microbial flora of Spanish "Roncal" cheese. *Lait*, **60**, 595
- PALEARI, M. A.; SONCINI, G.; BERETTA, G.; DRAGONI, I. y PIANTONI, L. (1993). A study on a typical mountain raw milk cheese. *Sci. Aliments* **13**, 723.
- PAQUET, J. y GRIPON, J. C. (1980). Intracellular peptide hydrolases of *Penicillium roqueforti*. *Milchwissenschaft* **35**, 72.
- PATTEL, C. V.; FOX, P. F. y TARASSUK, N. P. (1968). Bovine milk lipase. II. Characterization. *J. Dairy Sci.* **51**, 1879.
- PEARCE, K.N.; CREAMER, L.K. y GILLES, J. (1973). Calcium lactate deposits on rindless Cheddar cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **8**, 3.
- PIATKIEWICZ, A. (1987). Lipase and esterase formation by mutants of lactic acid streptococci and lactobacilli. *Milchwissenschaft* **42**, 61.

- POLO, C.; RAMOS, M. y SANCHEZ, R. (1985). Free amino acids by high performance liquid chromatography (HPLC) and peptides by gel electrophoresis in Mahon cheese during ripening. *Food Chem.* **16**, 85.
- POMAR, E.; WALSER, N.; PRIETO, B.; TORNADIJO, M.E.; FRESNO, J.M. y GONZÁLEZ, J. (1999). Chemical parameters and mineral composition of milk and whey in the manufacture of zamorano D.O. cheese. *VI Encontro de química de Alimentos*, Coimbra, Portugal, pp 398.
- POMAR, E.; FRANCO, I.; PRIETO, B.; TORNADIJO, M.E.; FRESNO, J.M. y GONZÁLEZ, J. (1999). Caracterización química y físico-química del queso Zamorano con D.O. *Simposio Internacional caracterización de los productos ganaderos de la dehesa*, Zafra (Badajoz, España).
- POLYCHRONIADOU, A. y VLACHOS, J. (1979). Les acides aminés du fromage Télémé. *Lait* **59**, 234.
- POZNANSKI, S. y RYMAZEWSKI, J. (1965). Proteolysis during the ripening of Edam cheese with the participation of some bacteria strains. Part I. Changes in particular nitrogen fractions. *Milchwissenschaft* **20**, 14.
- PRIETO, B. (1992). Estudio bioquímico del queso de vaca de León (Oseja de Sajambre): Aportaciones a su caracterización. Tesina de Licenciatura. Universidad de León.
- PRIETO, B. (1999). Estudio bioquímico del proceso madurativo del queso de vaca de León Tesis Doctoral. Universidad de León. León. España.
- PRIETO, B.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J.; BERNARDO, A. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1991). Queso de vaca de León: Fracciones nitrogenadas y aminoácidos libres. *An. Fac. León* **37**, 53.
- PRIETO, B.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J.; BERNARDO, A. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1994). Biochemical characteristics of Leon raw cow milk cheese, a Spanish craft variety. *Sci. Aliment.* **14**, 203.
- PRIETO, B.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1996). Estudio del contenido mineral a lo largo de la maduración de tres quesos españoles (Picón Bejes-Tresviso, Babia-Laciana y León). *Simposium Intern.: Los fundamentos de la calidad de los productos típicos mediterraneos de origen animal*. Badajoz y Zafra, España, 2.
- PRIETO, B.; FRANCO, I.; y CARBALLO, J.;(1997). Los quesos de Galicia: características tecnológicas, bioquímicas, microbiológicas y organolépticas. *Alimentaria diciembre*, 29.
- PUCHADES, R.; LEMIEUX, L. y SIMARD, R. E. (1989). Evolution of free aminoacids during the ripening of Cheddar cheese containing added Lactobacilli strains. *J. Food Sci.* **54**, 885.
- QUINTO, E. J.; FRANCO, C. M.; CENTENO, J. A. y CEPEDA, A. (1992). Calidad microbiológica del queso de Arzúa, *Anal. Bromatol.* **XLIV (2 – 3)**, 167.
- QUINTO, E. J.; FRANCO, C. M.; RODRÍGUEZ – OTERO, J. L.; FENTE, C. y CEPEDA, A. (1994). Microbiological quality of Cebreiro cheese from northwest of Spain. *J. Food Safety* **14**, 1.
- RAMOS, M.; BARNETO, R.; SUÁREZ, J.A. y ÍÑIGO, B. (1982). Contribution of study of Mahón cheese. I. Microbiological and biochemical aspects. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebens.* **7**, 167.
- RAO, M. V. R. y DUTTA, S. M. (1981). Purification and properties of β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci* **46**, 1419.

- REIMERDES, E.H. (1983). New aspects of naturally occurring proteases in bovine milk. *J. Dairy Sci.* **66**, 1591.
- REITER, B.; FRYER, T.F.; PICKERING, A.; CHAPMAN, H.R.; LAWRENCE, R.C. y SHARPE, M.E. (1967). The effect of microbial flora on the flavour and free fatty acid composition of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* **34**, 257.
- RESMINI, P.; SARACCHI, S.; PAZZAGLIA, C. y DE BERNARDI, G. (1976) Structura primaria del primo peptide ad alta mobilità electroforética (α_{s1} -I) che si forma nella maturazione dei formaggi. *Sci. Tec. Latt. Cas.* **27**, 7.
- RESMINI, P.; SARACCHI, S.; VOLONTERIO, G. y BOZZOLATI, M. (1969). Gli amminoacidi liberi nel formaggio Taleggio. *Il Latte* **43**, 99.
- RICHARDSON, B.C. y PEARCE, K.N. (1981). The determination of plasmin in dairy products. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **16**, 209.
- RICHTER, R. L. y RANDOLPH, H. E. (1971). Purification and properties of a bovine milk lipase. *J. Dairy Res.* **54**, 1275.
- RODRIGUEZ-MEDINA, M.L. (1995). Estudio de los grupos microbianos de interés tecnológico, con especial referencia a la flora acidoláctica durante la elaboración y maduración del queso de vaca de León (Onseja de Sajambre) Tesina de Licenciatura. Universidad de León.
- RODRIGUEZ MEDINA, M. L.; TORNADIJO, M.E.; CARBALLO, J.; MARTIN-SARMIENTO, R.; BERNARDO, A.; GONZALEZ PRIETO, J. (1995). Microbiological study of León raw cow-milk cheese, a Spanish craft variety. *J. Food Prot.* **57**, 998.
- ROLLEMA, H.S.; VISSER, F.M.W. y POLL, J.C. (1981). On the determination, purification and characterization of the alkaline proteinase from bovine milk. *Neth. Milk Dairy. J.* **35**, 396.
- ROMÁN BLANCO, C. y GARCÍA LOPEZ, M.L. (1995). Especies de bacterias acidolácticas que participan en la obtención de quesos de oveja madurados (Castellano y Zamorano). *XV Congreso Nacional de Microbiología*, Madrid, España, pp. 140.
- ROMÁN BLANCO, C.; FREYRE CABALLERO S. Y GALVÁN ROMO, J.L. (1996). Fabricación de quesos con cultivos iniciadores autóctonos de Castilla y León. *X Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos*, Valencia, España, pp.68.
- ROMÁN, C.; PÉREZ CARDENAL, D.; GONZÁLEZ, C.J. y GARCÍA, M.C. (1991). Evolución de la flora esporulada en quesos madurados elaborados con leche de oveja artesanal e industrialmente. *XIII Congreso Nacional de Microbiología*, Salamanca, España, pp. 216.
- RÜEGG, M. y BLANC, B. (1977). Relationships between water activity, water sorption capacity and cheese composition. *Milchwissenschaft* **32**, 193.
- RÜEGG, M. y BLANC, B. (1981). Influence of water activity on the manufacture and aging of cheese. En *Water Activity. Influences of Food Quality*. Ed. L.B. Rockland and G.F. Stewart. Academic Press (IUFOST International Symposium on Properties of Water N° 2), London.
- SAPRU, A.; BARBANO, D. M.; YUN, J. J.; KLEI, L. R.; OLTENACU, P.A. y BANDLER, D.K. (1997). Cheddar cheese: Influence of milking frequency and stage of lactation on composition and yield. *J. Dairy Sci.* **80**, 437.
- SCHLESSER, J.E.; SCHMIDT, S.J. y SPECKMAN, R. (1992). Characterization of chemical and physical changes in Camembert cheese during ripening. *J. Dairy Sci.* **75**, 1753.

- SCOTT, R. (1986). *Cheesemaking Practice*. 2^a Ed. Elsevier. Appl. Sci. Publ. London.
- SCOTT, R. (1991). *Fabricación de queso*. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- SCHMIDT, J.L., GRAFFARD, C. y LENOIR, J. (1979). Contribution à l'étude des aptitudes biochimiques des levures isolées du fromage Camembert. I. Essais préliminaires. *Lait* **59**, 142.
- SCHMIDT, J.L. y LENOIR, J. (1972). Contribution à l'étude des entérocoques et de leur aptitudes technologiques. *Lait* **52**, 536.
- SMITH, J. L.; BUCHANAN, R. L. y PALUMBO, S. A. (1983). Effect of food environment on Staphylococcal enterotoxin synthesis: A review. *J. Food Prot.* **46**, 545.
- SEVERN, D.J.; JOHNSON, M.E. y OLSON, N.F. (1986). Determination of lactic acid in Cheddar cheese and calcium lactate crystals. *J. Dairy Sci.* **69**, 2027.
- SIDEBOTTOM, C.M.; CHARTON, E.; DUNN, P.P.J.; MYCOCK, G.; DAVIES, C.; SUTTON, J.L.; MACTAE, A.R. y SLABAS, A.R. (1991). *Geotrichum candidum* produces several lipases with markedly different substrate specificities. *Eur. J. Biochem.* **202**, 485.
- SIEBER, R.; BADERTSCHER, R.; FUCHS, D. y NICK, B. (1994). Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung schweizerischer konsumreifer Weich- und Halbhartkäse. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **85**, 366.
- SING, H.; y CREAMER, L. K. (1990). A sensitive quantitative assay for milk coagulants in cheese and whey products. *J. Dairy Sci.* **73**, 1158.
- SING, H.; RAO, M. V. R. y DUTTA, S. M. (1979). Partial purification and properties of *Leuconostoc citrovorum* β -galactosidase. *Milchwissenschaft* **34**, 475.
- SORHAUG, T. (1981). Comparison of peptidase hydrolases from six strains of *Brevibacterium linens*. *Milchwissenschaft* **36**, 137.
- STADHOUDERS, J. y VERINGA, H.A. (1973). Fat hydrolysis by lactic acid bacteria in cheese. *Neth. Milk Dairy J.* **27**, 77.
- STADHOUDERS, J.; HUP, G. y VAN DER WAALS, C.B. (1977). Determination of calf rennet in cheese. *Neth. Milk Dairy J.* **31**, 3.
- SUÁREZ, J.A. y IÑIGO, B. (1982) Contribution to study of Mahón cheese. II. Yeast microflora. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebens.* **7**, 173.
- SUÁREZ, J.A. BARNETO, R. y IÑIGO, B. (1983) Contribution to study of Mahón cheese. III. Lactic acid bacteria and enterococci. *Mikrobiol. Technol. Lebens.* **8**, 52.
- SUÁREZ, J.A. BARNETO, R. y IÑIGO, B. (1984) Contribution to study of Mahón cheese. IV. Selection of bacterial strains with technologically interesting characteristics. *Mikrobiol. Technol. Lebens.* **8**, 147.
- TAN, P.S.T.; POOLMAN, B. y KONINGS, W.N. (1993). Proteolytic enzymes of *Lactococcus lactis*. *J. Dairy Res.* **60**, 269.
- THAKUR, M. K.; KIRK, J. R. y HEDRICK, T. I. (1975). Changes during ripening of unsalted Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **58**, 175.

- THOMAS, T.D. (1987). Acetate production from lactate and citrate by non-starter bacteria in Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **22**, 25.
- THOMAS, T.D. y CROW, W.L. (1983). Mecanism of D (-) lactic acid formation in Cheddar cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Techn.* **18**, 131.
- THOMAS, T.D. y PEARCE, K.N. (1981). Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **16**, 253.
- THOMAS, T.D. y PRITCHARD, G.G. (1987). Proteolytic enzymes of dairy starter cultures. *FEMS Microbiology Reviews* **46**, 245.
- TORNADIJO, M.E. (1996). Evolución e identificación de los microorganismos responsables del queso de Armada, variedad sobado. Tesis Doctoral U. León. España.
- TORNADIJO, M.E.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1993) Study of enterobacteriaceae throught the manufacturing and ripening of hard goat's cheese. *J. Appl. Bacteriol.* **75**, 240.
- TORNADIJO, M.E.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1994). Especies de levaduras aisladas del queso de Armada, variedad sobado. 9º Congreso de Microbiología de los Alimentos, Lérida, 103.
- TORNADIJO, M.E.; FRESNO, J.M.; BERNARDO A.; MARTIN-SARMIENTO, R. y CARBALLO, J. (1995). Microbial changes throught the manufacturing and ripening of a Spanish goat's raw milk cheese (Armada variety). *Lait* **75**, 551.
- TORNADIJO, M.E.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J. y MARTIN-SARMIENTO, R. (1996). Population levels species and characteristics of Micrococcaceae during the manufacturing and ripening of Armada Sobado hard goat's milk cheese. *J. Food Prot.* **59**, 1200.
- TRIEU-CUOT, P. y GRIPON, J.C. (1982). A study of proteolysis during Camembert cheese ripening using isoelectric focusing and two-dimensional electrophoresis. *J. Dairy Res.* **49**, 501.
- TRIEU-CUOT, P.; ARCHIERI – HAZE, M. J. y GRIPON, J.C. (1982a). Etude comparative de l'action des metalloproteases de *Penicillium caseicolum* et *Penicillium roqueforti* sur les caseines. *Lait* **62**, 234.
- TRIEU-CUOT, P.; ARCHIERI – HAZE, M. J. y GRIPON, J.C. (1982b). Effect of aspartyl proteinases of *Penicillium caseicolum* and *Penicillium roqueforti* on caseins. *J. Dairy Res.* **49**, 487.
- TURNER, K.W.; MORRIS, H.A. y MARTLEY, F.G. (1983). Swiss-type cheese. II. The role of thermophilic lactobacilli in sugar fermentation. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **18**, 117.
- TURNER, K.W. y THOMAS, T.D. (1980). Lactose fermentation in Cheddar cheese and the effect of salt. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* **15**, 265.
- URDIALES, R. (1998). Estudio de la composición química global y de los fenómenos lipolíticos y proteolíticos en los quesos de las D. O. "Quesucos de Liébana" y "Picón Bejes-Tresviso". Tesina de Licenciatura. Fac. Vet. Univ. León. León. España.
- VAKALERIS, D.G. y PRICE, W.V. (1959). A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *J. Dairy Sci.* **42**, 264.
- VAN DEN BERG, G. y EXTERKATE, F.A. (1993). Technological parameters involved in cheese ripening. *Int. Dairy J.* **3**, 485.

- VANBELLE, M.; VERVACK, W. y FOULOU, M. (1978). Composition en acides gras supérieurs de quelques types de fromages consommés en Belgique. *Lait* **58**, 246.
- VERDI, R. J.; y BARBANO, D. M. (1991). Properties of proteases from milk somatic cells and blood leukocytes. *J. Dairy Sci.* **74**, 2077.
- VISSER, F.M.W. (1977a). Contribution of enzymes from rennet starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 2. Development of bitterness and cheese flavour. *Neth. Milk Dairy J.* **31**, 188.
- VISSER, F.M.W. (1977b). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 3. Protein breakdown: analysis of the soluble nitrogen and amino acid nitrogen factors. *Neth. Milk Dairy J.* **31**, 210.
- VISSER, S. (1993). Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor: an overview. *J. Dairy Sci.* **76**, 329.
- VISSER, F.M.W. y GROOT-MOSTERT, A.E.A. (1977). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 4. Protein breakdown: a gel electrophoretic study. *Neth. Milk Dairy J.* **31**, 247.
- VISSER, S.; HUP, G.; EXTERKATE, F.A. y STADHOUDERS, J. (1983). Bitter flavour in cheese. 2. Model studies on the formation and degradation of bitter peptides by proteolytic enzymes from calf rennet, starter cells and starter fractions. *Neth. Milk Dairy J.* **37**, 169.
- VISSER, S. y SLANGEN, K.J. (1977). On the specificity of chymosin (rennin) in its action on bovine β -casein. *Neth. Milk Dairy J.* **31**, 16.
- VISSER, S.; SLANGEN, K.J.; ALCATING, A.C. y VREEMAN, H.J. (1989). Specificity of bovine plasmin in its action on bovine α ₂-casein. *Milchwissenschaft* **44**, 335.
- VLAEMYNCK, G. (1992). Study of lipolytic activity of the lipoprotein lipase in lunch cheese of the Gouda type. *Milchwissenschaft* **47**, 164.
- WALSER, N. (1999). Comunicación personal.
- WALSTRA, P. y JENNESS, R. (1989). *Química y física lactológica*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- WONG, N. P.; LACROIX, D. E.; MATINGLY, W. A. ; VESTAL, J. H. y ALFORD, J. A. (1976) The effect of manufacturing variables on the mineral content of Cottage cheese. *J. Dairy Sci.* **59**, 41.
- WONG, N. P.; LACROIX, D. E. y VESTAL, J. H. (1977). Traces minerals in Cottage cheese. *J. Dairy Sci.* **60**, 1650.
- WOO, A.H.; KOLLIDGE, S. y LINDSAY, R.C. (1984). Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *J. Dairy Sci.* **67**, 874.
- YU, J.H. (1986). Studies on the extracellular and intracellular lipase of *Lactobacillus casei*. I. On the patterns of free fatty acids liberated from milk reacted with the lipases. *Korean J. Dairy Sci.* **8**, 167.
- ZEVACO, C. y DESMAZEAUD, M. J. (1979). Hydrolysis of β -casein and peptides by intracellular neutral protease of *Streptococcus diacetylactis*. *J. Dairy Sci.* **63**, 15.