

Facultad de Ingeniería Química

Facultad de Ciencias Veterinarias



**Carrera de Especialización en Ciencia y Tecnología
de la Leche y Productos Lácteos**

*“Estudio de la desestacionalización de la producción del
queso de cabra a través del proceso de congelación”*

Autor: Lic. Patricia CAMBURSANO

**TRABAJO FINAL INTEGRADOR PRESENTADO COMO PARTE DE LOS
REQUISITOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL PARA LA
OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO DE ESPECIALISTA EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS**

Tutor: Mg. Mario C. CANDIOTI – Instituto de Lactología Industrial (UNL–CONICET)

Co–Tutor: Ing. Carlos A. MEINARDI – Instituto de Lactología Industrial (UNL–CONICET)

Santa Fe, Marzo de 2019

A mi familia, el motor de mi vida.

Agradecimientos

- A todos el equipo docente de la Carrera de Especialización en Ciencia y Tecnología de la Leche y los Productos Lácteos, por su fuerte aporte en mi formación profesional.

- Al Mg. Mario Candiotti e Ing. Carlos Meinardi, mis tutores, por acompañarme en este trabajo, por su tiempo, paciencia, dedicación y apoyo.

- A mis compañeros de INTI Lácteos sede Rafaela, por su participación desinteresada en este proyecto.

- Al establecimiento La Majadita, del norte de la provincia de Córdoba, por su colaboración.

- A todos los que me alentaron a llevar adelante este Trabajo Final de Integración.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 7 |
| I- INTRODUCCIÓN | 10 |
| 1- El ganado caprino | 12 |
| 2- Leche de cabra | 17 |
| 2.1 Situación nacional e internacional - Destino de la leche de cabra | 17 |
| 2.2 Características composicionales y nutricionales de la leche de cabra | 22 |
| 3- Producción de leche de cabra | 40 |
| 3.1 Estacionalidad de la leche de cabra | 43 |
| II- OBJETIVOS | 45 |
| III- MARCO TEÓRICO | 47 |
| 1- Quesos | 47 |
| 1.1 Quesos: Definición y Clasificación | 47 |
| 1.2 Queso de cabra | 49 |
| 1.3 Proceso de elaboración de quesos | 50 |
| 1.3.1 Formación del gel de caseína | 51 |
| 1.3.2 Deshidratación del gel | 72 |
| 1.3.3 Maduración del gel deshidratado | 81 |
| 2- La congelación como alternativa a la desestacionalización en la producción de quesos | 85 |
| IV- ENSAYOS, RESULTADOS y DISCUSIÓN | 89 |
| 1- Materiales y Métodos | 89 |
| 1.1 Preparación de la leche para las distintas experiencias | 89 |
| 1.2 Esquema general de la elaboración de quesos | 91 |
| 1.2.1 Elaboración de queso testigo | 93 |
| 1.2.2 Elaboración de quesos a partir de leche cruda congelada | 93 |
| 1.2.3 Elaboración de quesos a partir de cuajadas congeladas | 93 |
| 1.2.4 Elaboración de quesos a partir de masas casearias sin madurar congeladas | 93 |
| 1.3 Envasado | 94 |

| | |
|--|-----|
| 1.4 Toma de muestras | 94 |
| 1.5 Determinaciones microbiológicas | 94 |
| 1.6 Ensayos fisicoquímicos | 95 |
| 1.7 Determinaciones cromatográficas | 98 |
| 1.8 Evaluación sensorial | 98 |
| 2- Resultados y Discusión | 99 |
| 2.1 Leche de cabra cruda | 99 |
| 2.2 Elaboración de Queso Testigo (Q1-T) | 100 |
| 2.3 Quesos elaborados con leche cruda congelada (Q2) | 103 |
| 2.4 Quesos elaborados a partir de cuajada congelada (Q3) | 104 |
| 2.5 Quesos elaborados a partir de masa casearia (queso sin madurar) congelada (Q4) | 110 |
| 2.6 Análisis comparativo de los quesos elaborados | 115 |
| V- CONCLUSIONES | 122 |
| VI- BIBLIOGRAFÍA | 125 |

RESUMEN

RESUMEN

La producción de leche de cabra es una actividad bastante incipiente en nuestro país, a pesar de que en los últimos años haya comenzado a ganar mayor terreno. Tiene la particularidad de poseer una estacionalidad productiva (debido, principalmente, a las épocas de parición), lo cual afecta directamente al período de lactancia. Como resultado de ello, se obtiene, una gran producción de leche en las estaciones de primavera y verano, seguida de una consecuente falta de oferta de productos lácteos caprinos en el periodo invernal.

Argentina cuenta con numerosos establecimientos productores de quesos, incluyendo los quesos de cabra que responden a esta estacionalidad. Es por ello que en el presente Trabajo Final Integrador se aborda el estudio de una alternativa para desestacionalizar la producción de leche caprina, implementando como estrategia la congelación en diferentes etapas del proceso de elaboración de quesos. Esta alternativa, permitiría mantener un suministro uniforme y constante de productos caprinos por un lapso mayor al de su tiempo de producción.

Para ello, en una primera instancia se llevó a cabo una revisión bibliográfica a los fines de contar con adecuada información acerca de la producción caprina, las características de la leche y su procesamiento. También se recabó información acerca del empleo de la congelación, una práctica industrial ya adoptada en Francia.

Una vez recabada la información necesaria, se llevó a cabo un desarrollo experimental, en cual se aplicó la práctica de congelación para dos tiempos de conservación, en la leche cruda, en cuajadas y masas casearias sin madurar. En cada una de las etapas que conformaron la experiencia, se realizaron las correspondientes determinaciones, a los efectos de analizar los parámetros de calidad de los productos finales, y así evaluar el impacto de esta práctica sobre la calidad higiénica sanitaria, fisicoquímica y sensorial.

Se concluyó que implementar la técnica de congelación, ya sea que se aplique sobre la cuajada, o bien, sobre masa casearia sin madurar, es una buena alternativa para asegurar disponibilidad de quesos de óptima calidad, elaborados con leche caprina, por un lapso mayor al de producción de esta última.

Si bien, en términos generales, la congelación por un período de 4 meses reveló ser la mejor opción dado que los parámetros estudiados arrojaron los mejores resultados, se plantea la importancia de profundizar el estudio de la alternativa de congelación durante 7 meses, a los efectos de optimizar las propiedades de los quesos obtenidos, para que pueda ser considerada como un recurso viable.

INTRODUCCIÓN

I- INTRODUCCIÓN

En general, las leches no tradicionales, se caracterizan por estar asociadas a economías regionales (con pequeñas escalas de producción) y a la elaboración artesanal de productos de elevado valor agregado. Si bien en Argentina estas leches vienen despertando un creciente interés, al no existir la tradición de consumirlas fluidas, los volúmenes producidos son casi enteramente destinados a la elaboración de quesos.

Sin embargo, cabe destacar que, dado que comúnmente, los tambos caprinos cuentan con un plantel reducido de animales, el volumen de leche producido resulta significativamente menor al de leche bovina y, por ende, desde el punto de vista económico, no justifica la puesta en marcha de una planta para la de elaboración diaria de quesos. Así, la actividad productiva de nuestro país, proviene fundamentalmente de pequeñas empresas, que se caracterizan por una gran diversificación en sus producciones y por contar, en casi todos los casos, con mano de obra familiar.

Por otro lado, es importante aclarar, que la producción cuantitativa y cualitativa de leche de cabra depende de muchos factores, a los que se puede agrupar en: intrínsecos, es decir aquellos relacionados directamente al animal, tales como su genética, raza, nivel de producción, estado de lactancia, estado fisiológico, etc. y extrínsecos, es decir, relacionados al medio, como ser, la estación, temperatura, prácticas de manejo, sistema de ordeño, alimentación, estado de salud, duración del periodo seco, etc.

A nivel mundial, se puede decir que, dentro de los derivados lácteos caprinos, el queso es el producto comercializado más importante, siendo Francia el principal proveedor de ellos, y EEUU, Canadá, México y Japón los mayores demandantes.

En Argentina, los derivados lácteos caprinos, de mayor consumo, a pesar de desconocerse sus cualidades, corresponden a los quesos, y en mucha menor medida, al dulce de leche. La mayoría de las plantas elaboradoras de queso de cabra, se localizan principalmente en la región Noroeste (NOA). En este contexto, se destaca la presencia de tres tipos de establecimientos productivos: integrados, no integrados e institucionales. Los primeros son aquellos que se encuentran relacionados con una industria, ya sea por inversiones propias de la industria o bien por contar con acuerdos de aprovisionamiento. Los segundos, en su mayoría, son productores que ordeñan las cabras y comercializan quesos artesanales producidos en los propios

establecimientos. Finalmente, los institucionales son aquellos establecimientos que forman parte de alguna ONG u organismo que incluye a pequeños productores.

Con respecto a la comercialización, puede decirse que la distribución de productos lácteos caprinos se da principalmente en base a la venta regional (en el establecimiento o en locales especiales) o bien en grandes cadenas de supermercados. No obstante, en general, la funcionalidad de este mercado se ve afectada por la estacionalidad del sistema productivo y, por consiguiente, la capacidad de oferta disponible por parte de las industrias.

1. EL GANADO CAPRINO

La cabra es un mamífero rumiante, doméstico, rústico, adaptable a regiones áridas y semiáridas, y flexible a climas que van del subtropical pasando por el templado hasta los predominantes en las regiones más frías. Por ello, y por ser una de las especies más numerosas del planeta, es que se considera al ganado caprino de gran importancia a escala mundial (Tabeada N., 2014).

El caprino se destaca por su rusticidad, precocidad, docilidad y adaptación al medio, (Trezeguet M., 2010a) donde tiene la capacidad de transformar alimentos de escasa calidad y cantidad en carne, cuero, pelo y leche. De este modo, se puede inferir que presenta notables ventajas económicas, por cuanto, con pequeños costes de mantenimiento, genera productos de elevada demanda y precio, lo cual, a su vez, trae aparejada una ocupación estable, con un adecuado manejo.

Puesto que en América no existía la cabra doméstica antes de la conquista, se cree que los primeros ejemplares, pertenecientes a la raza blanca celtibérica, llegaron con el segundo viaje de Colón. Inicialmente, éstos se asentaron en Perú, desde donde se exportaron a Argentina, especialmente a las provincias de Córdoba y Tucumán, las que se constituyeron en los núcleos originales a partir de los que se desarrolló la ganadería caprina en el Noroeste Argentino (NOA) (Trezeguet M., 2010a).

Por otro lado, debido a la selección natural que tuvo lugar a través de 500 años posteriores a la conquista, a la falta de atención por parte de los productores, resultados de la consanguinidad, ausencia de control sanitario en los campos en que les ha tocado vivir y subsistir, hoy tenemos una cabra muy fértil, sana, aclimatada, denominada “Cabra Criolla” (Trezeguet M., 2010a).

Según datos de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) en 2010, la población mundial de cabras alcanzó aproximadamente unos 910 millones de cabezas. Al contrario de lo que sucede con otras especies de granja, ésta se concentra en las regiones en desarrollo, en virtud de lo cual, actualmente casi el 95% de la ganadería caprina se concentra en Asia y África, principalmente en China, India y Japón (Figura 1).

Por su parte, en América del Sur, son Argentina y Chile los países que han impulsado esta especie, sobre todo en zonas de muy bajas precipitaciones, donde, conjuntamente, se

desarrolla una actividad casearia para el mercado gourmet, lo que representa una experiencia que podría ser extrapolada a otras regiones de América Latina.

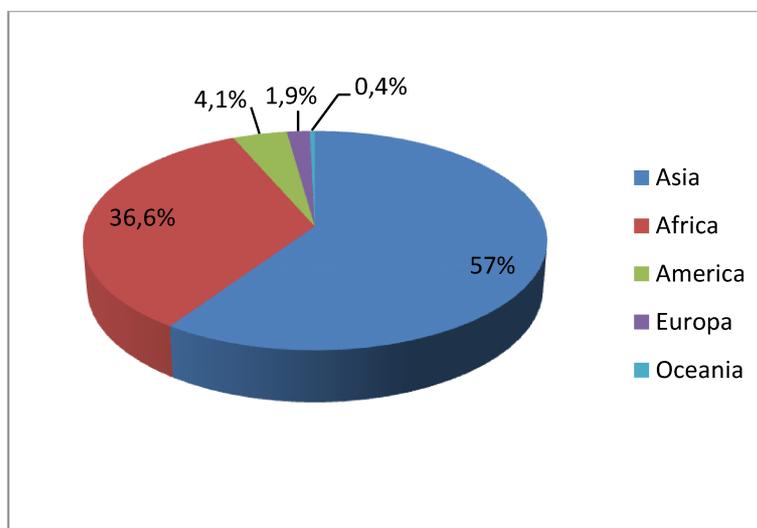


Figura 1: Distribución caprina en el mundo– Fuente: FAO, 2010.

En América del Sur el ganado caprino se compone de 21 millones de animales, siendo Argentina uno de los más grandes productores, con rebaños distribuidos en la región centro-oeste, patagónica y norte del país. De éstos, la mayor concentración se localiza en la zona noroeste, donde se agrupa el 25% de las existencias nacionales, lo cual representa el 63% de la producción total de leche (Tabeada N., 2014).

En la Tabla I, se puede apreciar la distribución provincial del ganado caprino, presentada por PlaNet Finance (2011).

Tabla I: Total de producción de ganado caprino por provincia (Marzo 2010). – Fuente: Sistema de Gestión Sanitaria (SIGSA) – Coordinación de Campo – Dirección Nacional de Sanidad Animal – SENASA.

| PROVINCIA | TOTAL CAPRINOS |
|----------------------------|------------------|
| Capital Federal | 36 |
| Buenos Aires | 27.759 |
| Catamarca | 84.409 |
| Córdoba | 135.408 |
| Corrientes | 22.499 |
| Chaco | 342.457 |
| Chubut | 145.179 |
| Entre Ríos | 17.524 |
| Formosa | 217.864 |
| Jujuy | 91.950 |
| La Pampa | 81.962 |
| La Rioja | 111.138 |
| Mendoza | 698.353 |
| Misiones | 2.677 |
| Neuquén | 940.835 |
| Rio Negro | 213.420 |
| Salta | 321.553 |
| San Juan | 37.598 |
| San Luis | 81.755 |
| Santa Cruz | 1.147 |
| Santa Fe | 55.154 |
| Santiago del Estero | 397.347 |
| Tucumán | 11.012 |
| TOTAL | 4.039.036 |

De acuerdo a estos registros, se infiere que, Mendoza posee el 17% del stock nacional, Chaco y Córdoba suman el 12% y Neuquén el 23%.

Como se describe, nuestro país cuenta con 4 millones de cabezas (FAO, 2010), las que son atendidas por unos 50.000 productores, quienes orientan su explotación especialmente hacia la obtención de carne, leche y pelo (Tabeada N., 2014).

En términos generales, y a nivel nacional, los sistemas productivos son básicamente extensivos, con pastoreo en campos naturales sin límites precisos y mayormente degradados, con escasez de agua de bebida y carencia de infraestructura de trabajo adecuada.

Por otro lado, el sistema de producción caprino es estacionario, con dos momentos de pariciones; uno en primavera-verano, y otro en invierno. Esta estacionalidad genera picos de rendimiento en la producción de carne y de leche.

Tal como se consignó previamente, el Noroeste Argentino (NOA) presenta una gran cantidad de rodeos caprinos que, siendo un sustento económico de productores, paulatinamente, se está transformando en una importante fuente de ingresos para la región. En este sentido, la producción quesera es la principal actividad de los productores de la zona, donde se elabora una amplia variedad de quesos con diversas características, en las que se emplea leche cruda o pasteurizada, con o sin utilización de fermentos lácticos, de pasta blanda o cocida, etc.

La importancia de esta ganadería caprina en el NOA radica en 3 aspectos:

- **Social:** Permite a familias de escasos recursos, desarrollar una actividad laboral en base a la cría de cabras.
- **Económico:** Constituye un válido medio de subsistencia.
- **Agroambiental:** Posibilita el aprovechamiento de territorios no explotados debido a su aridez y progresiva desertificación.

A su vez, en este contexto, se distinguen dos grandes sub actividades:

➤ **Actividad Lechera:** Se encuentra ligada a la producción de leche asociada a canales formales de comercialización, como ser abastecimiento a queserías. Sin embargo, también existe un comercio informal, que es el correspondiente a aquellos tambos que elaboran y comercializan sus propios quesos. Cabe mencionar, a su vez, que la mayoría de los tambos pertenecen a productores de escasos recursos.

➤ **Actividad Cabritera:** Es la que concierne a sistemas de producción extensivos donde se produce cabrito para carne, que se hallan asociados a canales de comercialización tanto formal como informal.

Es importante destacar que, en estos sistemas, es común la falta de incorporación de tecnologías en cuanto al manejo de las majadas, alimentación, sanidad y reproducción, situación que impacta en los índices productivos (Tabuada N., 2014).

2. LECHE DE CABRA

2.1. Situación nacional e internacional – Destino de la leche de cabra

A nivel mundial, la producción de leche de cabra se encuentra en el tercer lugar detrás de la producción de leche de vaca y búfala, contribuyendo en un 2,1 % a la producción mundial anual.

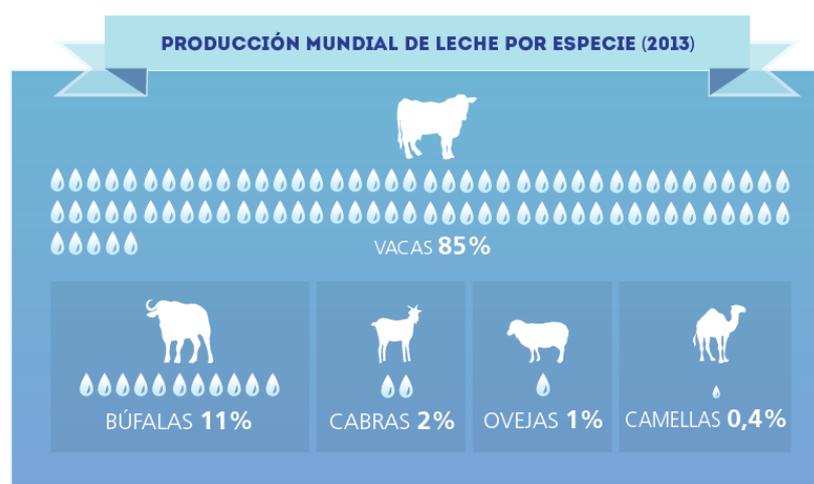


Figura 2: Producción mundial de leches de distintas especies – Fuente: FAO, 2013.

Sin embargo, puede decirse que, aunque en cantidades muy inferiores a la leche bovina, hoy por hoy comienza a instalarse una costumbre más generalizada en la utilización y consumo de leche y producto lácteos de origen caprino.

Actualmente, se observa que la producción mundial de la leche caprina se concentra, principalmente, en pocos países, especialmente de Asia y África (Cercano Oriente y Norte de África), que están caracterizados por rentas bajas y condiciones ambientales poco favorables para la explotación de otro tipo de rumiantes, es decir, áreas tropicales o muy áridas. En estos países el destino fundamental de la leche es el consumo humano (AACREA, 2005).

Entre los principales productores figuran la India con alrededor de 2,6 millones de toneladas, seguida por Bangladesh con 1,4 millones de toneladas/año (Tabuada N., 2014).

Por otra parte, en Europa, la producción de leche de cabra se da principalmente en los países mediterráneos, siempre ligado a la elaboración de quesos de gran aceptación en el

mercado gourmet. Dentro de la Unión Europea, se destacan Francia, España y Grecia, cuyas producciones, de aproximadamente 500 mil toneladas anuales, son destinadas principalmente a la fabricación de quesos (Tabeada N., 2014).

En América Latina, se observa una mayor producción y consumo de leche de cabra en comparación con la ovina. Por el contrario, en el Caribe, a pesar de contar con rebaños importantes, sólo en Haití, y en cantidades muy bajas en relación a su inventario caprino, es explotada la leche caprina.

En América Central, únicamente Guatemala, pese a tener un gran inventario de cabras, éstas no son ordeñadas. Cabe señalar también que, si bien en la zona andina, Bolivia y Perú poseen grandes rebaños caprinos, los mismos reportan incipientes producciones de leche, al igual que ocurre en Brasil.

En la Argentina, la producción láctea de base caprina cuenta con un desarrollo muy reciente y tiene aún una dimensión reducida. En efecto, los escasos volúmenes y bajo nivel de tecnología, así como el limitado personal existente (de muy baja capacitación) con que se cuenta, lleva a una alta ineficiencia productiva.

La actividad nace alrededor de la década del ochenta, con dos emprendimientos pioneros localizados en la provincia de Santiago del Estero y Río Negro. En la primera de ellas, se ha conformado la cuenca lechera caprina más importante del país, la cuenca del Río Dulce (PlaNet Finance, 2011). Esta cuenca está constituida por alrededor de 50 pequeños establecimientos, que aportan cerca del 50% del total de la producción de leche del país (AACREA, 2005).

Otras provincias que actualmente se destacan en esta actividad son Catamarca, Salta, Córdoba, Mendoza y Buenos Aires (AACREA, 2005).

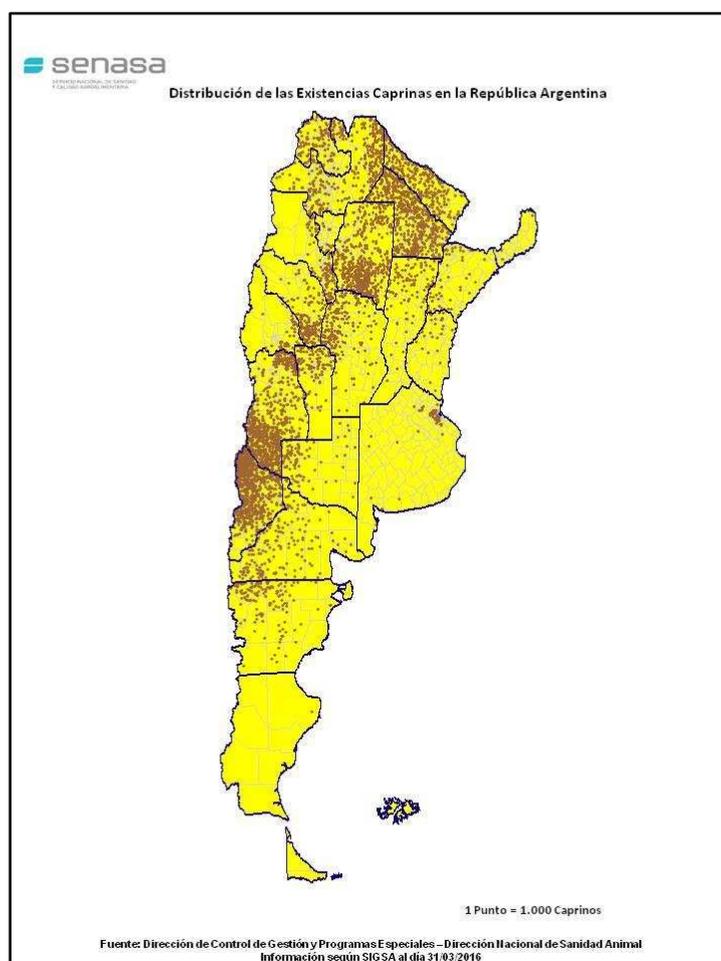


Figura 3: Distribución de las existencias caprinas– Fuente: SENASA, 2016.

En general, el productor de leche caprina es ignorante con respecto a los costos de producción, así como tampoco existe un precio de referencia de la leche. Esto lleva a una fuerte incertidumbre a la hora de la comercialización tanto de la leche fluida como de los productos lácteos. Por este motivo, en muchas oportunidades, los productores exhiben una cierta debilidad frente a los compradores, quienes a su vez, por lo general, resultan escasos (PlaNet Finance, 2011).

En lo atinente a productos lácteos caprinos, si bien no se tiene una información precisa sobre el mercado de los mismos a nivel mundial, se sabe que el producto de mayor comercialización es el queso, siendo los principales demandantes Estados Unidos, Canadá, México y Japón, mientras que, Francia, Holanda y España, figuran como los proveedores más importantes. Entre estos últimos, se destaca Francia, que actualmente está considerada como el

país líder, tanto en materia de tecnología e industrialización caprina, cuyos productos, principalmente quesos, cuentan con denominación de origen controlada y tienen un reconocido prestigio a nivel mundial (AACREA, 2005).

Al igual que en el resto de los países, en Argentina, la leche de cabra es utilizada fundamentalmente para la elaboración de quesos y, en mucha menor medida, para la obtención de otros productos tales como leche fluida, yogur, leche en polvo y dulce de leche (AACREA, 2005).

Al respecto, se estima que en nuestro país se producen 2 millones de litros de leche de cabra anuales, de los cuales el 90% se destina a la fabricación de quesos artesanales, obteniéndose aproximadamente 150 T/año, cuyo destino final es el consumo en el mercado interno (PlaNet Finance, 2011). Asimismo, algunos datos indican que, cerca de 50 mil litros de leche/mes son destinados a la elaboración de quesos semi artesanales e industriales, mientras que unos 15 mil litros más son destinados a elaboraciones artesanales en las provincias del noroeste (AACREA, 2005).

Por lo general, en la elaboración de quesos se observa la tradición francesa, mediante la cual se obtienen variedades tales como: Lusignan, Crottin, Camembert y especialidades untables, entre otros.

Si bien Argentina es un país preferentemente consumidor de queso de vaca, actualmente, se está abriendo un nuevo mercado de quesos de cabra, como consecuencia de la expansión de este tipo de explotaciones y el interés creciente de la industria por la producción de quesos diferenciados aunque, en general, se desconoce acerca de las cualidades de estos artículos (AACREA, 2005).

A nivel nacional existen más de 30 plantas elaboradoras de quesos de cabras, de las cuales, al menos 20, están en el NOA (AACREA, 2005), aunque sólo cinco o seis empresas son lo suficientemente grandes para ser consideradas “industrias” (PlaNet Finance, 2011).

Cabe señalar que, debido a los grandes volúmenes que procesa la industria, esta operación, se ve afectada por la estacionalidad y, consecuentemente, la disponibilidad de la oferta (PlaNet Finance, 2011).

La principal raza utilizada en este tipo de producción es la cabra criolla, aunque en la actualidad, existen cabañas nacionales que poseen razas como Saanen, Toggenburg, Pardo Alpina y Anglo–Nubian (Figura 4).



Figura 4: Razas de cabras lecheras.

Asimismo, también se han ido adoptando, en forma creciente, diversas cruzas de estas razas y, en algunos casos, animales provenientes de cruzas pero sin una raza definida (AACREA, 2005).

Las cabras criollas, en general, producen medio litro de leche diario, con una lactancia de 120–150 días; las media sangre (criolla por raza lechera) pueden producir 1–1,250 Litros diarios, con una lactancia de 200 días, mientras que, razas lecheras producen 2–3,5 litros diarios (o más), con una lactancia de 300 días.

Si bien en el NOA las cabras criollas pueden parir durante todo el año, y por lo tanto producen leche, en distintas épocas, a medida que son cruzadas con razas lecheras van perdiendo esa cualidad.

Estableciendo una comparación entre la producción e industrialización de leche de cabra en nuestro país y Francia, considerado como el principal productor de lácteos caprinos a nivel mundial, se pueden observar los siguientes ítems:

- ✓ El volumen promedio de leche producido por cabra por año en Argentina es aproximadamente 2,5 veces menor que el promedio en Francia.
- ✓ La fracción de leche que se destina a la elaboración de quesos es similar en Argentina y en Francia (aprox. 90% en ambos casos).
- ✓ El volumen total de quesos producidos en Argentina es 450 veces menor que el producido en Francia.
- ✓ El consumo per cápita en Argentina es aproximadamente 100 veces menor que el consumo en Francia.

2.2. Características composicionales y nutricionales de la leche de cabra

Una de las propiedades fundamentales de la leche, es la de ser una mezcla de numerosos compuestos químicos, entre los que se encuentran sustancias bien definidas tales como lactosa, grasas, proteínas, sales, etc. A su vez, estos componentes se presentan bajo tres estados físicos que coexisten en el medio (Alais Ch., 1985a):

- Emulsión: de materia grasa bajo forma globular;
- Suspensión: de caseínas, ligadas a sales minerales; y
- Solución: de sales, lactosa, proteínas solubles, etc. Forma el medio más voluminoso, continuo.

En la Figura 5, se puede apreciar el tamaño relativo de los elementos estructurales presentes en la leche, amplificados a diferentes niveles (Walstra P. et al, 2006a).

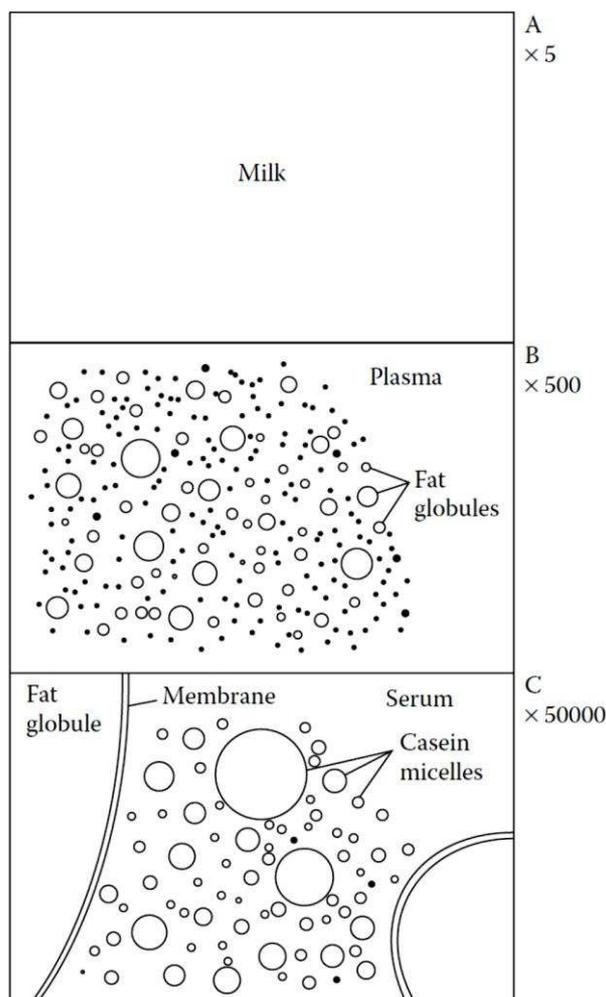


Figura 5: Tamaño relativo de los elementos estructurales presentes en la leche, amplificados a diferentes niveles. (A) Con un aumento de 5x, la leche se presenta como un líquido uniforme. Sin embargo, dado que este líquido es turbio, el mismo no puede ser homogéneo. (B) Llevando el aumento a 500x, se observan los glóbulos de grasa (en forma de partículas esféricas), que flotan en la fase líquida, denominada Plasma, la cual aún aparece turbia. (C) A 5000x, se puede ver que el Plasma contiene partículas proteicas, que corresponden a las micelas de caseína. El líquido remanente, llamado Suero, es todavía opalescente, lo cual indica que contiene otras partículas. Los glóbulos grasos aparecen enormes, pudiéndose apreciar la delgada membrana que los recubre (membrana del glóbulo graso), de diferente constitución, cuyo espesor promedio es de unos 9 nm.

Sin embargo, dado que tanto la composición como la concentración de los diferentes componentes que conforman la matriz láctea varía notablemente según la especie animal, la raza, la genética animal, la alimentación, el número de ordeños diarios, edad, la estación del año, entre otros factores, las características fisicoquímicas de la leche de los distintos mamíferos presentan una gran diversidad (Chacón Villalobos A., 2005).

A modo de ejemplo, en la Tabla II se presentan los valores promedio correspondientes a la composición de la leche de diferentes especies.

Tabla II: Composición de la leche de diferentes especies – Fuente: Portal Lechero, 2011.

| | Agua | Grasa | Proteínas | Glúcidos | Minerales |
|--------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| Mujer | 87 | 4.5 | 1.1 | 7.6 | 0.3 |
| Vaca | 88 | 3.4 | 3.2 | 4.7 | 0.7 |
| Búfala | 82 | 7.5 | 4 | 4.8 | 0.8 |
| Oveja | 82 | 7 | 5.5 | 4.3 | 0.9 |
| Cabra | 86 | 4.3 | 3.8 | 4.6 | 0.8 |
| Burra | 90 | 1.1 | 1.6 | 6.5 | 0.5 |
| Yegua | 89 | 1.7 | 2.1 | 6.1 | 0.4 |
| Camella | 87 | 4.1 | 3.4 | 3.8 | 0.7 |

En virtud de lo expuesto, el Código Alimentario Argentino (CAA), en su Artículo 554 – (Res 22, 30.01.95), emite la siguiente definición: "*Con la denominación de Leche sin calificativo alguno, se entiende el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. La leche proveniente de otros animales, deberá denominarse con el nombre de la especie productora*".

A su vez, el CAA define las características fisicoquímicas que la leche de cabra debe presentar para ser consumida como tal o bien para ser destinada a la elaboración de productos lácteos, las cuales pueden observarse en la Tabla III.

Tabla III: Características fisicoquímicas que debe reunir la leche de cabra.

| REQUISITOS | Valores Aceptados |
|-----------------------------|-------------------|
| Densidad a 15°C | 1.027 – 1.039 |
| Materia grasa (g/100ml) | Mín. 3 |
| Sólidos No Grasos (g/100ml) | Mín. 9 |
| Proteínas totales (g/100ml) | Mín. 2,8 |
| Acidez | 14 – 22°D |
| Descenso crioscópico | Máx. –0,540°C |

Sin embargo, cabe aclarar que existen numerosas razas caprinas con grandes variaciones en sus cualidades. Entre las más explotadas en nuestro país, se destacan la denominada Saanen que se caracteriza por su excelente producción de leche, y la Anglo Nubian la cual produce leche con cantidades elevadas de grasa, ideal para la producción de quesos (Tabeada N., 2014).

El elevado valor nutricional que entraña la leche caprina, surge de su óptima composición, en la que sus principales nutrientes: proteína y materia grasa se encuentran en una proporción altamente favorable, superando ampliamente a la bovina (Sanz Ceballos L., 2008). En efecto, desde hace tiempo, se sugiere que el valor de la proteína de la leche de cabra podría resultar superior al de vaca, debido a su mejor utilización, tanto a nivel digestivo como metabólico. Indudablemente, este predominio, surge de la diferencia composicional que exhiben las fracciones proteicas correspondientes a ambos tipos de leche.

Como resultado de estas apreciaciones, actualmente, se ha suscitado una creciente tendencia por la inclusión de leche caprina en distintos tipos de alimentos destinados a atender los requerimientos específicos tanto de infantes como de diferentes estratos de la población (Sanz Ceballos L., 2008).

2.2.1. Proteínas

Las proteínas de la leche se dividen en dos fracciones principales: **caseínas y proteínas del suero o sueroproteínas.**

a) Caseínas

La caseína entera es un complejo de proteínas fosforadas que constituye la parte nitrogenada más característica de la leche, dado que no existe ninguna sustancia parecida ni en la sangre ni en los tejidos de los mamíferos. Está integrada por las caseínas α_1 , α_2 , β , κ y los residuos γ_1, γ_2 y γ_3 (provenientes de la degradación de β -caseína, que se encuentran en muy escasa proporción), las cuales contienen del 76 al 80% del nitrógeno total de la leche (Alais Ch., 1985b; Walstra P. et al, 2006; Fox P.F. et al, 2015).

Los distintos tipos de caseína se encuentran en todas las especies mamíferas estudiadas hasta el momento, aunque su proporción varía ampliamente según la especie, como se observa en la Tabla IV. Sin embargo, a nivel ultra estructural, las micelas de caseína son similares en la mayoría de las especies.

Tabla IV: Porcentaje de caseínas en leche de distintas especies – Fuente: Farrell et al., 2006.

| CASEÍNA | Cabra | Vaca | Humana |
|---------------|--------|------|--------|
| α_{S1} | 5 a 17 | 38 | Trazas |
| α_{S2} | 6 a 20 | 10 | Trazas |
| β | 50 | 40 | 70 |
| κ | 15 | 12 | 27 |

Si bien existe una homología del 80–90% entre la proteína de la leche bovina y la caprina, como puede verse, la principal diferencia entre ambas, es el menor tenor de α_{S1} -caseína que presenta esta última. Vale explicar que la proporción en la que se presenta la α_{S1} -caseína determina, no sólo la calidad nutritiva o saludable de la leche de cabra, sino también la calidad tecnológica para su procesamiento. En efecto, podemos decir que una leche con alta concentración de α_{S1} -caseína, presentará una alta calidad tecnológica (mayor tiempo de coagulación y mayores rendimientos), mientras que el bajo o nulo contenido de α_{S1} -caseína, mostraría escasa capacidad tecnológica pero una mejor calidad nutritiva (Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003). Esto estaría dado porque a nivel del estómago, se forme un coágulo más blando y friable, que facilita la acción de las proteasas gástricas e intestinales, dando lugar a más rápida y eficiente digestibilidad (Sanz Ceballos L., 2008).

Asimismo, una mayor proporción de β -caseína y seroalbúmina y una menor de α_{s1} -caseína presente en la leche caprina, reducen los problemas de alergia e intolerancia, presentados en algunos segmentos poblacionales a esta última proteína, especialmente ancianos y niños (Tabeada N., 2014).

Micelas

Estas caseínas, en presencia de iones calcio, se asocian espontáneamente de un modo muy especial que conduce a la formación de partículas complejas conocidas como micelas. En efecto, dado que las caseínas α_{s1} , α_{s2} y β son sensibles a los iones Ca^{+2} naturalmente presente en la fase acuosa de la leche, a diferencia de la κ -caseína que es insensible, en su estado nativo, estas proteínas se encuentran organizadas en partículas coloidales, aproximadamente esféricas, cuyos diámetros pueden ir desde 20 a 300 nm, mediante lo cual aseguran su estabilidad en dicha fase (Alais Ch., 1985b; Swaisgood H.E., 2003; Horne D.S., 2011; Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Walstra P. et al, 2006c; Fox P.F. et al, 2015; Horne D.S., 2006; Ferradini E. et al, 2006).

¿Cómo están formadas las micelas?

Esencialmente, son agregados porosos, constituidos por un 92% de caseína (contienen el 80% de la proteína total de la leche) que poseen un alto grado de hidratación (aproximadamente 2 g H_2O /g de proteína), e incluyen una importante carga mineral (alrededor del 8%), comúnmente conocida como fosfato de calcio coloidal o CCP (acrónimo del inglés, coloidal calciumphosphate), constituida principalmente por calcio, fosfato, magnesio, citrato y otros compuestos en cantidad traza (Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; De Kruif C.G. and Holt C., 2003; Ferradini E. et al, 2006).

Durante más de cincuenta años, se han estudiado y postulado diferentes teorías y modelos tendientes a explicar la estructura y estabilidad de las micelas caseínas en la leche. Los modelos tradicionales más aceptados describen a la micela como un conjunto de submicelas unidas por puentes de fosfato de calcio coloidal y otras interacciones (Schmidt D.G., 1982; Alais Ch., 1985b; Walstra P., 2006c). Si bien este modelo explica los fenómenos observados

experimentalmente de una manera fácil y lógica, resultados obtenidos más recientemente, introducen dudas que cuestionan la existencia de las submicelas, así como la localización y el rol que desempeña el fosfato de calcio dentro de las micelas. En efecto, hay crecientes evidencias de que la estructura micelar no está conformada por submicelas, sino que más bien se trata de un entramado o red proteica flexible, aproximadamente esférico, más o menos homogéneo, fuertemente hidratado y mineralizado, formado por la asociación de moléculas de caseínas individuales generada por su interacción con partículas de fosfato cálcico coloidal de tamaño nanométrico (nanoclusters). De este modo, la estructura micelar sería menos organizada, más abierta, laxa y fluida, a lo que algunos autores denominan “bola de spaghetti” (Ferrandini E. et al, 2006).

Uno de los primeros en formular esta teoría fue C. Holt (1992, 1994, 1998), quien describió la micela como una red enmarañada de moléculas de caseína flexibles, formando una estructura parecida a un gel, integrada por gránulos de fosfato de calcio, y que posee una capa superficial de pelos hidrofílicos de κ -caseína, como se muestra en la Figura 6 (Fox P.F. et al, 2015).

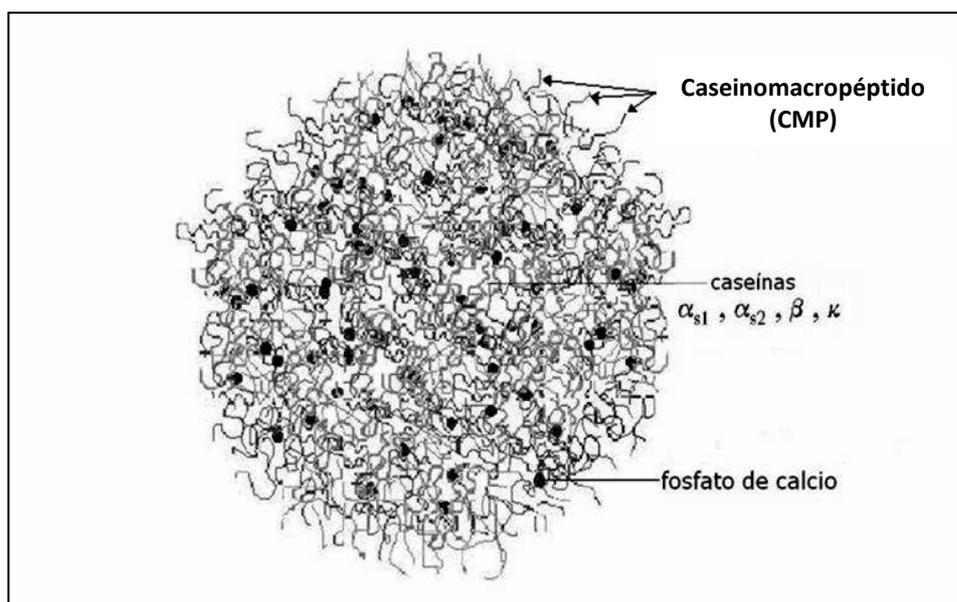


Figura 6: Estructura micelar basada en el Modelo de Holt.

En el núcleo, las cadenas polipeptídicas están parcialmente entrecruzadas por los nanogránulos de fosfato de calcio, calcio (que constituyen el centro de crecimiento de la micela), mientras que en la región externa, quedan expuestos al medio los segmentos hidrofílicos de las

κ -caseína (extremo C-terminal), denominado Caseinomacropéptido (CMP). Esta disposición, conocida como “capa pilosa” confiere a la micela estabilidad de carga y/o estérica, impidiendo así su interacción con las partículas vecinas.

Si bien este modelo justifica el reducido diámetro (unos pocos nanómetros) de las regiones de fosfato de calcio observadas por Knoop A.M. et al (1973) en el interior de las micelas, no explica la formación de la capa pilosa ni la reducida presencia de κ -caseína en el interior de las micelas (a pesar de su fuerte tendencia a asociarse entre sí).

Intentando dar respuesta a algunos interrogantes, D.S. Horne (1998), propone el “Modelo de unión dual” (o “Modelo de doble unión”), el cual podría considerarse como una extensión del modelo de estructura interna de Holt. A diferencia de este último, Horne estima que las interacciones proteína-proteína son esenciales y sostiene que la naturaleza anfifílica de las caseínas es la responsable de la polimerización y estructuración micelar (Horne D.S., 2011). En este modelo, las uniones hidrofóbicas serían las responsables de la fuerza de atracción que contribuye a la formación y estabilización de la micela, mientras que las repulsiones de tipo electrostático serían las limitantes del crecimiento ininterrumpido de la misma. Asimismo, Horne considera al fosfato de calcio, no como un “cementante”, sino más bien como modulador de la función del Ca^{2+} y del fosfato de la micela, lo cual justifica el hecho de que el CCP se pueda extraer fácilmente de las micelas de caseína mediante acidificación de la leche a temperaturas por debajo de 20°C sin producir una alteración aparente de la estructura micelar, o bien que la adición de urea induzca a la disociación de la micela caseínica sin disolución del CCP.

En la Figura 7 se presenta un esquema del modelo propuesto por Horne.

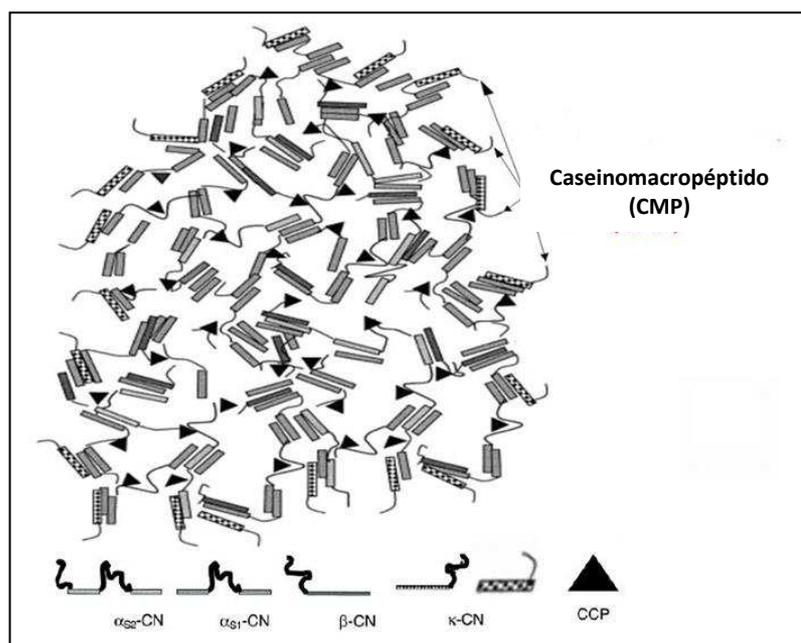


Figura 7: Asociaciones entre caseínas según el modelo propuesto por Horne.

En la parte inferior se pueden apreciar las regiones hidrofóbicas (trazos claros, horizontales) e hidrofílicas (trazos oscuros, elevados) identificados, para cada caseína, responsables de las interacciones que mantienen la estructura. Las regiones hidrofílicas, que contienen los clúster de fosfoserina, se proyectan hacia la fase acuosa. A su vez, la κ -caseína, que no posee clúster de fosfoserina, no es sensible a la presencia de ion Ca^{+2} , pero su extremo C-terminal (región correspondiente al carboxilo terminal) es muy hidrofílica (contiene glúcidos y algunos residuos de Treonina), naturalmente irá ocupando, las posiciones más superficiales, en forma preferencial.

El modelo propuesto por Horne constituye una buena herramienta para profundizar en el análisis y comprensión de algunos de los fenómenos físicos y reológicos más complejos, y de mayor transcendencia funcional, que caracterizan a los geles lácteos.

En la Figura 8 se puede apreciar una micrografía electrónica de una micela de caseína individual (Dalglish D.G. et al, 2004).

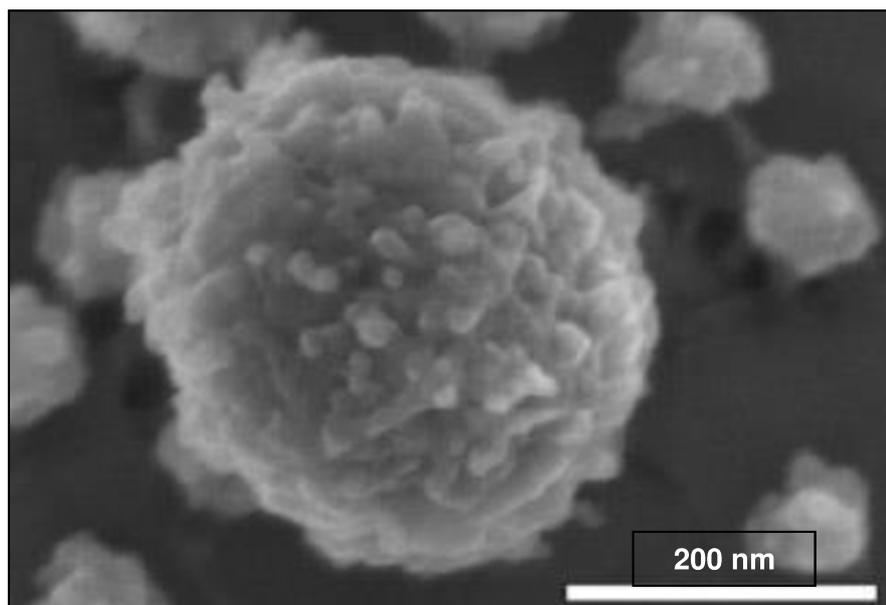


Figura 8: Micrografía electrónica de una micela de caseína individual. Las partículas más pequeñas pueden corresponder a fracciones disociadas. La barra de escala (trazo blanco) representa 200 nm – Fuente: Dalglish D.G. et al, 2004.

Cabe mencionar que, las características del complejo caseínico dependen también con la especie. En efecto, además de las diferencias composicionales, ya mencionadas, las micelas exhiben distintos tamaños según el tipo de leche, como por ejemplo, en la leche de cabra son mayores que en la de vaca y éstas, a su vez, mayores que en humana (Figura 9). De allí deriva la diferencia en el grado de dispersión de las mismas al comparar leche descremada de vaca, de cabra y humana.



Figura 9: Partículas de caseínas – Fuente: Alais Ch., 1985b.

Las caseínas se distinguen de las demás proteínas de la leche por el hecho de coagular bajo la acción del cuajo o de una acidificación a pH próximo a 4,6 (tal como se describe en el Capítulo III, Punto 1.3.1: Formación del gel de caseína), por lo que a la caseína entera también se la ha denominado “*proteína insoluble*” (Alais Ch., 1985b; Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Walstra P. et al, 2006b; Fox P.F. et al, 2015).

Cabe destacar que, el adecuado conocimiento del estado micelar de la caseína y los factores que afectan su estabilidad en la leche, constituye la base de las tecnologías que tienen por objetivo producir su desestabilización, como ocurre en la elaboración de queso o yogur.

b) Sueroproteínas

Las **proteínas del suero** de leche han sido definidas como “*la compleja fracción de sustancias no dializables contenidas en el suero que se obtiene tras la precipitación de la caseína a pH 4,6*”. De allí que también se las conoce como ***proteínas solubles*** (Alais Ch., 1985b).

Estas proteínas constituyen un grupo mucho más heterogéneo que el de las caseínas, tanto desde el punto de vista de su origen, como desde el de su composición.

Su tenor puede variar sensiblemente según la especie; por ejemplo, en la leche de los rumiantes, las sueroproteínas representan entre un 17 y un 20% de las materias nitrogenadas, mientras que en los mamíferos monogástricos, como en el caso de la leche humana, esta proporción se eleva notablemente, pudiendo llegar hasta un 50%. No obstante, en este caso, el valor absoluto es el mismo, o sea aproximadamente unos 6 g/l (Alais Ch., 1985b; Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Walstra P. et al, 2006b; Fox P.F. et al, 2015).

A través de la diferencia de solubilidad que exhiben las proteínas del suero cuando se las expone a agentes precipitantes tales como sulfato de sodio (12 y 20%), ácido tricloroacético o sulfato de amonio (semi saturación), se pueden distinguir los siguientes grupos:

- ***Albúminas***

Es cuantitativamente la fracción más importante. Por ejemplo, en la leche bovina, representa el 75% de las proteínas del suero lácteo (o sea, el 15% de las proteínas de la leche),

mientras que en la leche caprina, este valor se incrementa sensiblemente, pudiendo llegar hasta un 90%. Está compuesta fundamentalmente por tres tipos de proteínas: **α -lactoalbúmina (α -la), β -lactoglobulina (β -lg), mayoritaria y seroalbúmina.**

- ***Globulinas***

Este grupo, está conformado por las Inmunoglobulinas (anticuerpos), responsables de la transmisión de la inmunidad pasiva. Es una fracción muy pequeña en la leche bovina normal (~0,6 g/l), pero muy abundante en el calostro, donde puede llegar hasta unos 60 g/l (Walstra P. et al, 2006b).

- ***Proteínas menores***

Está integrado por distintas proteínas que se encuentran en muy baja concentración, siendo la principal la Lactoferrina. Con respecto a esta última, cabe destacar que actualmente ha despertado gran interés, debido a que, más allá de su importancia en el transporte del hierro, presenta múltiples funciones benéficas para la salud, tales como actividad antimicrobiana contra bacterias, virus, levaduras, hongos y parásitos, antiinflamatoria, antioxidante, activación de la inmunidad innata (inmunoestimulante), inmunorreguladoras, antitumoral, etc.

En la Tabla V se muestran los valores extremos de las principales proteínas presentes en la leche de cabra (Amigo L. and Fontecha J., 2011).

Tabla V: Composición de la proteína de la leche de cabra.

| Proteína | Concentración (%) |
|--------------------------------------|-----------------------|
| CASEÍNA TOTAL | 2,33 – 4,65 |
| β -caseína ^a | 0 ^b – 64,0 |
| κ -caseína ^a | 15,0 – 29,0 |
| α_{s1} -caseína ^a | 0 ^b – 28,0 |
| α_{s2} -caseína ^a | 10,0 – 25,0 |
| PROTEÍNAS DE SUERO | 0,37 – 0,70 |
| β -lactoglobulina ^c | 39,2 – 72,1 |
| α -lactoalbumina ^c | 17,8 – 33,3 |
| Seroalbúmina/Lactoferrina | 5,1 – 21,5 |
| Inmunoglobulinas ^c | 4,6 – 21,4 |

^a Porcentaje de proteína total.
^b Ausencia de β - o α_{s1} -caseína en la leche de animales no portadores de los respectivos alelos.
^c Porcentaje de suero total.
Las caseínas individuales y las proteínas de suero se expresan como porcentaje de la caseína total y suero de leche total, respectivamente.

Indudablemente, los intervalos de variación en las distintas concentraciones, se debe fundamentalmente a la amplia diversidad genética que existe en los loci correspondientes a las distintas proteínas.

2.2.2. Grasas

La materia grasa es uno de los componentes más importantes de la leche de cabra, en términos de costo, nutrición y de las características sensoriales que imparten a los distintos productos elaborados con ésta. La composición de ácidos grasos (AG) de la leche caprina exhibe diferencias sustanciales con la bovina. Así, por ejemplo, la grasa de la leche de cabra es rica en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), tales como los ácidos caprónico (C6:0), caprílico (C8:0), y cáprico (C10:0) y ácidos grasos de cadena media, como ser el ácido láurico (C12:0).

En la leche de cabra, los AGCC representan hasta un 15–18% del total de ácidos grasos, mientras que en la de vaca sólo llegan a un 5–9%. Esto es debido a diferencias en la polimerización del acetato producido por las bacterias presentes en el rumen de las cabras, y se

encuentra asociado a las características de aroma y sabor propias de los quesos elaborados con leche caprina.

En la Tabla VI se presentan los principales ácidos grasos encontrados en leche caprina, expresados como porcentaje del total de los ésteres metílicos derivados del total de los ácidos grasos (Amigo L. and Fontecha J., 2011).

Tabla VI: Principales ácidos grasos encontrados en leche caprina, expresados como porcentaje del total de los ésteres metílicos derivados del total de los ácidos grasos.

| Ácido Graso | Media | Rango |
|--|-------|---------------|
| Butírico (C4:0) | 2.18 | 1.97 – 2.44 |
| Capróico (C6:0) | 2.39 | 2.03 – 2.70 |
| Caprílico (C8:0) | 2.73 | 2.28 – 3.04 |
| Cáprico (C10:0) | 9.97 | 8.85 – 11.00 |
| Decenoico(C10:1) | 0.24 | 0.19 – 0.38 |
| Láurico (C12:0) | 4.99 | 3.87 – 6.18 |
| Dodecenoico(C12:1) | 0.19 | 0.10 – 0.40 |
| Tridecanoico (C13:0) | 0.15 | 0.06 – 0.28 |
| Mirístico (C14:0) | 9.81 | 7.71 – 11.20 |
| <i>iso</i> Pentadecanoico (C15:0) | 0.13 | 0.12 – 0.15 |
| <i>anteiso</i> Pentadecanoico (C15:0) | 0.21 | 0.17 – 0.24 |
| Miristoleico (C14:1) | 0.18 | 0.17 – 0.20 |
| Pentadecanoico (C15:0) | 0.71 | 0.46 – 0.85 |
| <i>iso</i> Palmítico (C16:0) | 0.24 | 0.17 – 0.40 |
| Palmítico (C16:0) | 28.00 | 23.20 – 34.80 |
| <i>iso</i> Heptadecanoico (C17:0) | 0.35 | 0.24 – 0.52 |
| <i>anteiso</i> Heptadecanoico (C17:0) | 0.42 | 0.30 – 0.50 |
| Palmitoleico (C16:1) | 1.59 | 1.00 – 2.70 |
| Heptadecanoico (C17:0) | 0.72 | 0.52 – 0.90 |
| Heptadecenoico(C17:1) | 0.39 | 0.24 – 0.48 |
| Estearico (C18:0) | 8.88 | 5.77 – 13.20 |
| Oleicoa (C18:1) | 19.30 | 15.40 – 27.70 |
| Linoleicoa (C18:2) | 3.19 | 2.49 – 4.34 |
| Eicosanoico (C20:0) | 0.15 | 0.08 – 0.35 |
| Linoléicoa (C18:3) | 0.42 | 0.19 – 0.87 |
| Linoleico conjugadoa (C18:2) | 0.70 | 0.32 – 1.17 |
| ^a Todos los isómeros Los rangos se basan en los resultados de diferentes autores | | |

Cabe señalar también que además de los AGCC, la leche caprina es más rica en ácidos grasos esenciales (linoleico y araquidónico) y su proporción mayor de ácidos grasos de cadenas cortas y cadenas medianas que la leche de vaca, la convierten en un producto más saludable (Tabeada N., 2014).

En lo que respecta a los triglicéridos de cadena media (formados por ácidos grasos cuya cadena carbonada tiene entre 6 y 14 átomos de carbono), en la leche caprina, su proporción normalmente alcanza a un 30% de los triglicéridos totales, a diferencia de la de vaca, en la que estos compuestos no superan el 20%. Resulta importante destacar que estos triglicéridos de cadenas media se caracterizan por seguir una vía de utilización distinta de los triglicéridos de cadena larga, que no sólo facilita su digestión, sino también, su aprovechamiento a nivel metabólico como fuente de energía, la que puede ser válida en distintos procesos, como los de mantenimiento e incluso, la síntesis proteica (Sanz Ceballos L., 2008).

Asimismo, resulta importante mencionar que la leche caprina contiene una elevada cantidad de ácidos grasos libres (AGL), los cuales son el resultado de la hidrólisis de la materia grasa, y cuya presencia puede conducir al desarrollo de aromas y sabores deseables o indeseables, según su naturaleza y concentración. Es por ello que los AGL son considerados la fuente principal de compuestos determinantes del flavor característico de este tipo de leche (Amigo L. and J Fontecha J., 2011). En este sentido, los ácidos grasos de cadenas ramificadas con menos de 11 átomos de carbono (virtualmente inexistente en la leche de vaca) han sido sindicados como los principales responsables del flavor característico de los productos lácteos elaborados con leche de cabra.

Sin embargo, el aspecto más novedoso informado hasta el presente, con relación a la composición de la grasa de la leche de rumiantes, se refiere a su contenido de ácidos linoleico conjugado (CLAs). Se trata de una serie de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, que contienen un doble enlace conjugado. Según los datos obtenidos a partir de modelos animales, se ha sugerido que el principal isómero de CLA, *cis*-9 *Trans*-11 C18:2, es responsable de las propiedades anticancerígenas como así también de los efectos antiaterogénico (aterogénesis: depósito e infiltración de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias).

La lipólisis en la leche caprina, se debe a la acción de diversas lipasas bien identificadas, cuya actividad se ve favorecida porque, al carecer de aglutinina (proteína cuya función es agrupar los glóbulos de grasa para formar estructuras de mayor tamaño), los glóbulos grasos se

mantienen dispersos en el suero y, por ende, son más susceptible a los ataques enzimáticos (Tabeada N., 2014). A su vez, a esta circunstancia, se suma el hecho de que el tamaño de estos glóbulos es muy pequeño, exhibiendo un diámetro medio de 3.5 μm , muy próximo al de la leche ovina (3.3 μm), y algo menor al de la bovina (4 μm), todo lo cual contribuye a su mayor digestibilidad (Tabeada N., 2014; Chacón Villalobos A., 2005). Sin embargo, se ha observado que, cuando una leche caprina es pasteurizada a 63°C durante 30 minutos, se produce una fusión entre los glóbulos grasos que, además de reducir su número, produce un incremento en el orden del 12% de su tamaño (Tabeada N., 2014).

2.2.3. Hidratos de carbono

El principal carbohidrato en la leche de cabra, al igual que en todas las leches, es la lactosa, aunque su contenido es menor al del resto de las especies (aproximadamente 1 a 13% menos que la leche de vaca y hasta 41% menos que en la humana). Esta particularidad, ha sido correlacionada con el hecho de que esta leche presenta menos problemas asociados con la intolerancia a dicho azúcar (Richardson C., 2004; Chacón Villalobos A., 2005).

Otros carbohidratos encontrados en la leche de cabra incluyen oligosacáridos, glucopéptidos, glicoproteínas y azúcares de nucleótidos. A diferencia de la leche bovina, en la que existen bajos niveles de monosacáridos y oligosacáridos, en la leche caprina, el tenor de oligosacáridos es elevado y presenta una notable diversidad. Es importante destacar que los oligosacáridos de la leche poseen considerables propiedades antigénicas, y son valiosos para promotores del crecimiento de una flora intestinal benéfica para el recién nacido. En efecto, se ha demostrado que estos compuestos favorecen el desarrollo de bifidobacterias en el recién nacido, a la vez que protegen la mucosa intestinal frente a microorganismos patógenos. Asimismo, también se ha sugerido que pueden desempeñar un papel en el desarrollo del cerebro neonatal.

Finalmente, cabe mencionar que la leche fresca caprina posee altos niveles de ácido siálico (hay 4 veces más ácido siálico que en la leche bovina: 230 mg/kg y 60 mg/kg respectivamente), y de nucleótidos (aproximadamente 154 mmol/100 ml de leche), los cuales son importantes donadores de grupos glicosil para la glicosiltransferasa (tanto en la leche como en la glándula mamaria), siendo precursores de glicoproteínas, glicolípidos y oligosacáridos en la biosíntesis de la leche (Amigo L. and Fontecha J., 2011).

2.2.4. Minerales

La leche, independientemente de la especie, así como los productos lácteos en general, es una de las principales fuentes de calcio dietario para el ser humano, por cuanto, en estos alimentos, además de su riqueza, dicho mineral exhibe una alta biodisponibilidad (Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003). Comparativamente, la leche de cabra es que la aporta la máxima concentración de Ca (13% más que la leche de vaca) y P (Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003; Chacón Villalobos A., 2005).

Esto no ocurre con el hierro, cuya concentración en la leche resulta insuficiente para satisfacer los requerimientos diarios y, por ende, se debe complementar mediante otras fuentes (Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003).

En la Tabla VII se puede apreciar las concentraciones (en mg/100g) de los principales minerales aportados por la leche de algunas especies.

Tabla VII: Composición mineral de la leche de diferentes especies (en mg/100g) – Fuente: Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003.

| | Ca | Fe | Mg | P | K | Zn |
|--------------|------------|------|----|------------|------------|------|
| Humana | 32 | 0.03 | 3 | 14 | 51 | 0.17 |
| Vaca | 119 | 0.05 | 13 | 93 | 152 | 0.38 |
| Cabra | 194 | 0.05 | 14 | 270 | 204 | 0.30 |
| Oveja | 160 | 0.10 | 18 | 145 | 136 | – |

Como puede verse y, tal como se consignó, la leche caprina constituye una excelente fuente de calcio, fósforo y potasio, con niveles de concentración sensiblemente mayores a los correspondientes a otras especies, especialmente, en relación a la bovina.

Asimismo, es importante destacar que la leche de cabra contiene además otros minerales como: manganeso, cobre, níquel, cromo, cloro, bromo y selenio (Tabeada N., 2014). Con respecto a este último (Se), considerado un micronutriente esencial en la nutrición del ser humano por su actividad antioxidante, también se encuentra en una cantidad superior a la leche de vaca y cercana a la leche humana (Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003).

2.2.5. Vitaminas

Dentro de las principales vitaminas presentes en la leche de cabra, se encuentran:

➤ Vitamina A, conocida como retinol. Comparativamente, la leche de cabra posee prácticamente el doble de Vitamina A que la leche de vaca. El alto contenido de esta vitamina, justifica la ausencia de carotenoides (precursores de Vitamina A) en la leche de cabra, ya que los mismos se encuentran convertidos en la forma vitamínica (Chacón Villalobos A., 2005; Amigo L. and Fontecha J., 2011).

➤ Dentro del complejo de Vitaminas B, la leche de cabra presenta Vitamina B₁ (tiamina), B₃ (niacina y nicotinamida) (Tabuada N., 2014). Esta última, junto a la Vitamina B₆ (piridoxina), se encuentran en mayores proporciones que en la leche de vaca, mientras que para las vitaminas B₉ (ácido fólico) y B₁₂ (cobalamina) se da una situación inversa (Chacón Villalobos A., 2005).

En lo que respecta a las Vitaminas C (ácido ascórbico), Vitamina D (calciferol), y vitaminas E (α -tocoferol) se puede decir que representan un caso particular de contenidos pobres en la leche de cabra (comparada con la leche de vaca), por lo que resulta necesario que sea suplementada en estas vitaminas cuando se destinan la leche a ciertos estratos, especialmente a niños (Chacón Villalobos A., 2005; Amigo L. and Fontecha J., 2011).

A modo de resumen, en la Tabla VIII se muestran los valores medio obtenidos para las principales vitaminas presentes en la leche de diferentes especies.

Tabla VIII: Composición vitamínica de la leche de diferentes especies – Fuente: Sanz Sampelayo M.R. et al, 2003.

| | Vit. A (UI/gr grasa) | Vit. B ₁ (mg/100 ml) | Vit. B ₉ (μ g) | Vit. B ₁₂ (mg/100 ml) | Vit. C (mg/100 ml) | Vit. D (UI/gr grasa) |
|--------------|----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--|--------------------------|----------------------------|
| Humana | 32 | 17 | 5 | 26 | 3.6 | 0.27 |
| Vaca | 21 | 45 | 5 | 159 | 2 | 0.7 |
| Cabra | 39 | 68 | 1 | 21 | 20 | 0.7 |
| Oveja | 25 | 7 | – | 36 | 43 | – |

3. PRODUCCIÓN DE LECHE DE CABRA

La producción de leche es un proceso que consta de dos fases: la secreción y excreción. La primera corresponde a la formación de leche en los alvéolos, mientras que la excreción está representada por la descarga de leche en los conductos, cisternas, pezones y recolección final por el ordeñador (Trezeguet M., 2010b).

La ubre de la cabra lechera está dividida en dos mitades perfectamente separadas. Éstas se diferencian de las demás especies por la anatomía de su mama, consecuencia de su facultad lechera. En efecto, la mama es más longilínea que globular y esto es porque en algunas cabras el estrechamiento en la base del pezón está completamente desaparecido, lo que establece una continuidad entre la cisterna y este último. No obstante, si bien las mamas son muy diversas según la especie, esto no influye en el ordeño (Trezeguet M., 2010b).

En las Figuras 10 y 11 se pueden apreciar algunos detalles de la morfología de la ubre de cabra, y del proceso de secreción respectivamente.

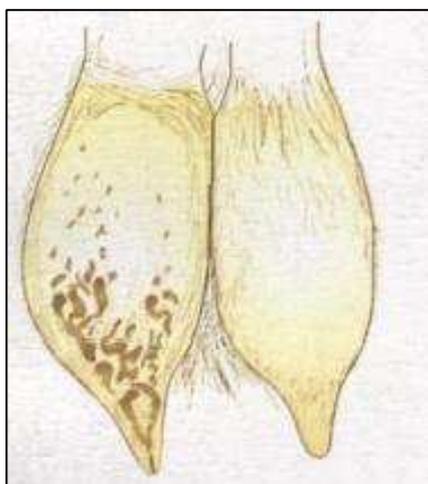


Figura 10: Forma de las ubres de la cabra – Fuente: Gösta Bylund, 2003a.

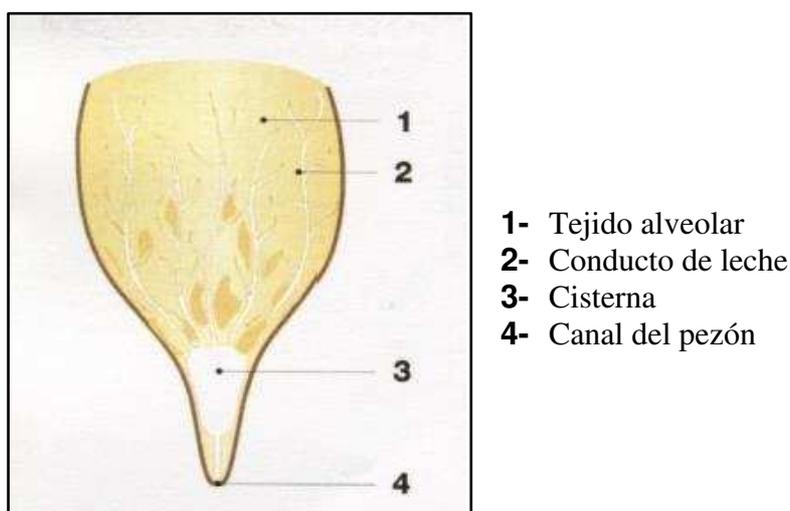


Figura 11: Secreción transversal de una mitad de la ubre de la cabra – Fuente: Gösta Bylund, 2003a.

Factores que afectan la producción y composición de la leche de cabra

Dentro de los factores que pueden afectar a la producción y la composición de la leche de cabra, se pueden destacar dos grupos:

➤ Los factores intrínsecos, como lo son la raza, los polimorfismos de la fracción proteica de la leche, el número de partos, el tipo de partos, el estado de la lactancia, la salud de la ubre, el período seco previo y la gestación.

➤ Los factores extrínsecos, tales como la época y el año del parto, las prácticas de ordeño (tipo, duración, intervalo, frecuencia de ordeños) y la alimentación de las cabras.

En las Figuras 12 y 13, se presentan, a modo de ejemplo, las variaciones que se producen en el contenido de caseína y de proteínas del suero, y en el rendimiento y tenor graso, respectivamente.

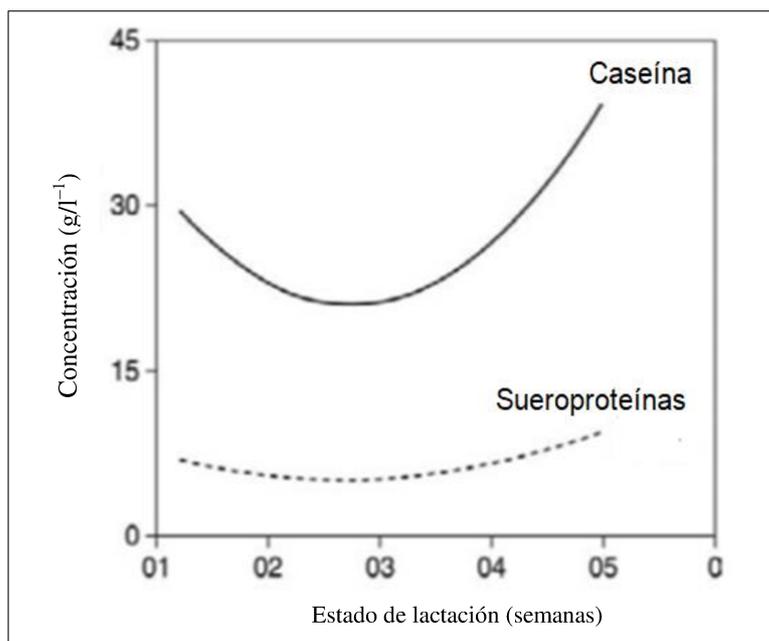


Figura 12: Cambios en la concentración de las principales proteínas de la leche caprina durante la lactación. – Fuente: Amigo L. and Fontecha J., 2011.

Como puede apreciarse, durante la lactación, el contenido de caseína presenta una mayor variación que el correspondiente a las proteínas del suero, mostrando un importante descenso inicial (que se hace mínimo aproximadamente a las tres semanas), a partir del cual se incrementa notablemente.

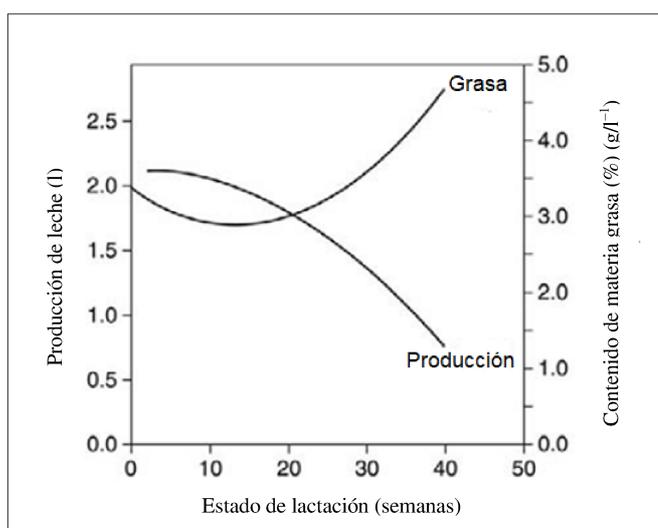


Figura 13: Cambios en la producción y en el contenido de materia grasa en leche caprina durante la lactación. – Fuente: Amigo L. and Fontecha J., 2011.

Como puede verse, si bien hay una cierta disminución en el contenido de materia grasa, a partir, aproximadamente de las doce o trece semanas, se verifica un marcado aumento. Por el contrario, el nivel de producción desciende sensiblemente a lo largo de todo el período de lactación.

3.1. Estacionalidad de la leche de cabra

La producción de leche caprina presenta una fuerte estacionalidad debido a que los partos, y por ende el período de lactancia, se concentran en las estaciones de primavera y verano. Esto ocasiona una marcada disminución de la oferta de leche durante el período invernal.

La estacionalidad en la producción primaria se suele traducir en capacidad ociosa en la etapa de industrialización, dado que, al estar las instalaciones y personal dimensionados para los picos de disponibilidad de leche, resulta inevitable que exista un sobre-dimensionamiento cuando la oferta de leche decrece. Asociado a este problema, se plantea el hecho de que la estacionalidad en la oferta de leche también atenta contra la necesidad de abastecer a los mercados de consumo final en forma relativamente constante. Por esta razón, en la mayoría de los casos, los industriales han decidido elaborar quesos semiduros, con mayor período de vida útil, en lugar de quesos blandos de menor durabilidad.

Una interesante alternativa propuesta para paliar los inconvenientes que se suscitan a partir de la estacionalidad, se basa en la aplicación de una etapa de congelamiento, tanto de la materia prima, como de los productos obtenidos a partir de ésta. Esta metodología, utilizada actualmente en Francia, consiste en acopiar el mayor volumen de leche, realizar una menor cantidad de elaboraciones semanales, pero de óptima calidad, y luego proceder al congelamiento tanto de la leche, como de la cuajada y quesos fabricados.

En virtud de lo expuesto, en el presente trabajo, se pretende estudiar los efectos derivados de la aplicación de esta práctica, sobre las leches, cuajadas y quesos producidos en nuestra región, a los efectos de verificar su viabilidad, como un recurso asequible que permita avanzar en la etapa de procesamiento industrial cuando se cuenta con materia prima disponible, y regular su salida como producto terminado, atendiendo a la demanda del mercado.

OBJETIVOS

II- OBJETIVOS

Objetivo General

Investigar y plantear una opción viable de elaboración de quesos de cabra para que, a través del método de conservación por congelamiento, se pueda asegurar su disponibilidad durante todo el año, contrarrestando el inconveniente que plantea la estacionalidad de la producción de leche.

Objetivos Específicos

- Realizar una búsqueda bibliográfica exhaustiva y posterior discusión acerca de las etapas tecnológicas requeridas para la elaboración de quesos con el fin de sugerir, de ser necesario, las modificaciones tecnológicas que permita procesar leche congelada y conservar quesos y/o cuajada congelada.
- Realizar una búsqueda bibliográfica para tomar conocimiento de lo existente sobre las alternativas de conservación de la leche de cabra, queso y cuajada para la disponer de quesos todo el año.
- Analizar la información recopilada y los resultados de la fase experimental de modo que se pueda proponer posibles aplicaciones del método, para la elaboración de quesos de cabra semi-duros en diferentes industrias.
- Comparar y diferenciar los parámetros de calidad de los productos finales obtenidos tras aplicar la congelación en diferentes etapas de fabricación, prestando mayor atención al impacto sobre la calidad higiénico-sanitaria, físico química y sensorial.

MARCO TEÓRICO

III- MARCO TEÓRICO

1. QUESOS

1.1. Quesos: Definición y Clasificación

En esencia, los quesos son una forma de conservación de dos componentes insolubles de la leche: la caseína y la materia grasa, que básicamente consiste en producir la coagulación de la leche, y posterior separación de la cuajada a través de lo que se conoce como desuerado, es decir, la extracción del lactosuero (el cual contiene la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche). La cantidad de suero remanente en la cuajada dependerá de la variedad de queso a elaborar (Tabeada N., 2014).

En este sentido, el Código Alimentario Argentino en su Artículo 605, Resolución Conjunta SPRyRS y SAGPyA N° 33/2006 y N° 563/2006, puntualiza: *“Se entiende por Queso el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de la leche o leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física, del cuajo, de enzimas específicas, de bacterias específicas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario; con o sin el agregado de sustancias alimenticias y/o especias y/o condimentos, aditivos específicamente indicados, sustancias aromatizantes y materiales colorantes”*

Sin embargo, es importante destacar que la transformación de la leche en queso implica la implementación de etapas tecnológicas fundamentales que permitan lograr un producto con la calidad esperada tanto por elaboradores como consumidores. No obstante, los principios básicos de la elaboración de quesos son de carácter general, es decir, pueden ser aplicados a todas las variedades de quesos existentes en el mundo, independiente de la especie de la cual proviene la leche. Por lo tanto estos fundamentos pueden ajustarse perfectamente a la elaboración de quesos de cabra, vaca u oveja.

Si bien, todas las variedades de queso (actualmente se reconocen más de doscientas) tienen su origen común en la leche, son las diferentes condiciones en que se desarrollan las etapas de fabricación, las que definen sus características. En este sentido, según un relevamiento realizado por Tabeada N. en 2014, y de acuerdo al Código Alimentario Argentino, los quesos pueden clasificarse de acuerdo a:

- El origen de la leche: vaca, cabra, oveja, búfala.
- La forma de coagulación: ácida o enzimática.
- La consistencia: blandos, semiduros, duros, y extraduros.
- El proceso de manufactura empleado y el tratamiento del grano: pasta cruda y pasta cocida.
- Los tiempos de maduración: frescos y madurados.
- El tipo de microorganismos empleado en su elaboración: solo bacterias, bacterias y hongos, con hongos de crecimiento en masa o en superficie, con o sin ojos, según tamaño de ojos.
- País de origen y por la combinación d estos ítems.
- El contenido de materia grasa del extracto seco:
 - ✓ Extra graso o doble crema (>60%)
 - ✓ Grasos (45 – 59.9%)
 - ✓ Semigrasos (25 – 44.9%)
 - ✓ Magros (10 – 24.9%)
 - ✓ Descremados (<10%)
- El contenido de humedad:
 - ✓ Quesos de baja humedad o pasta dura (>35.9%)
 - ✓ Quesos de mediana humedad o pasta semidura (36 – 45.9%)
 - ✓ Quesos de alta humedad o pasta blanda (46 – 54.9%)
 - ✓ Quesos de muy alta humedad o pasta muy blanda (>55%)

Es importante destacar que la calidad higiénico–sanitaria y la composición físico–química de la leche son los parámetros indispensables para la obtención de quesos de elevada calidad microbiológica, nutricional y sensorial.

La Legislación Argentina plantea que los quesos con períodos de maduración inferior a los 60 días, deben elaborarse con leche pasteurizada (ANMAT, 2014).

1.2. Quesos de cabra

En general, los quesos de cabra se distinguen más por las características de la leche que por la tecnología de elaboración, razón por la cual sería factible clasificarlos según los criterios precedentes.

La característica organoléptica más apreciada por los consumidores de este tipo de producto, es aquella que tiene que ver con la presencia de los ácidos grasos volátiles (C6:0, C8:0 y C10:0), los cuales, como ya se indicó, en la leche de cabra se encuentran en concentraciones más elevadas que en la leche de vaca (hasta el triple en el caso de C10:0) (Chacón Villalobos A., 2005; Tabeada N., 2014).

Durante la maduración, los equipos enzimáticos de los microorganismos, son capaces de liberar estos ácidos grasos volátiles a partir de la hidrólisis de las grasas, desarrollando el sabor picante y el aroma característico de los productos caprinos (Alais Ch., 1985d; Marilley L. and Casey M.G., 2004; Castillo I. et al, 2007; Fox P.F., 2011). Actualmente, debido al creciente interés por proteger la Denominación de Origen de determinados quesos, tales como Manchego, Mahon, Idiazabal, etc. se ha enfatizado el estudio de los perfiles de las fracciones de compuestos volátiles que los caracterizan (Martínez–Castro I. et al, 1991; Villaseñor J.M. et al, 2000; Mulet A. et al, 1999; Izco J.M. and Torre M., 2000; Larráyoiz P. et al, 2001).

1.3. Proceso de elaboración de quesos

En general, la elaboración de quesos, comprende una serie de etapas que son propias de la variedad de queso que se desea obtener. A modo de ejemplo, en la siguiente Figura 14, se presenta un esquema de los diferentes eventos que conforman un proceso general de elaboración.

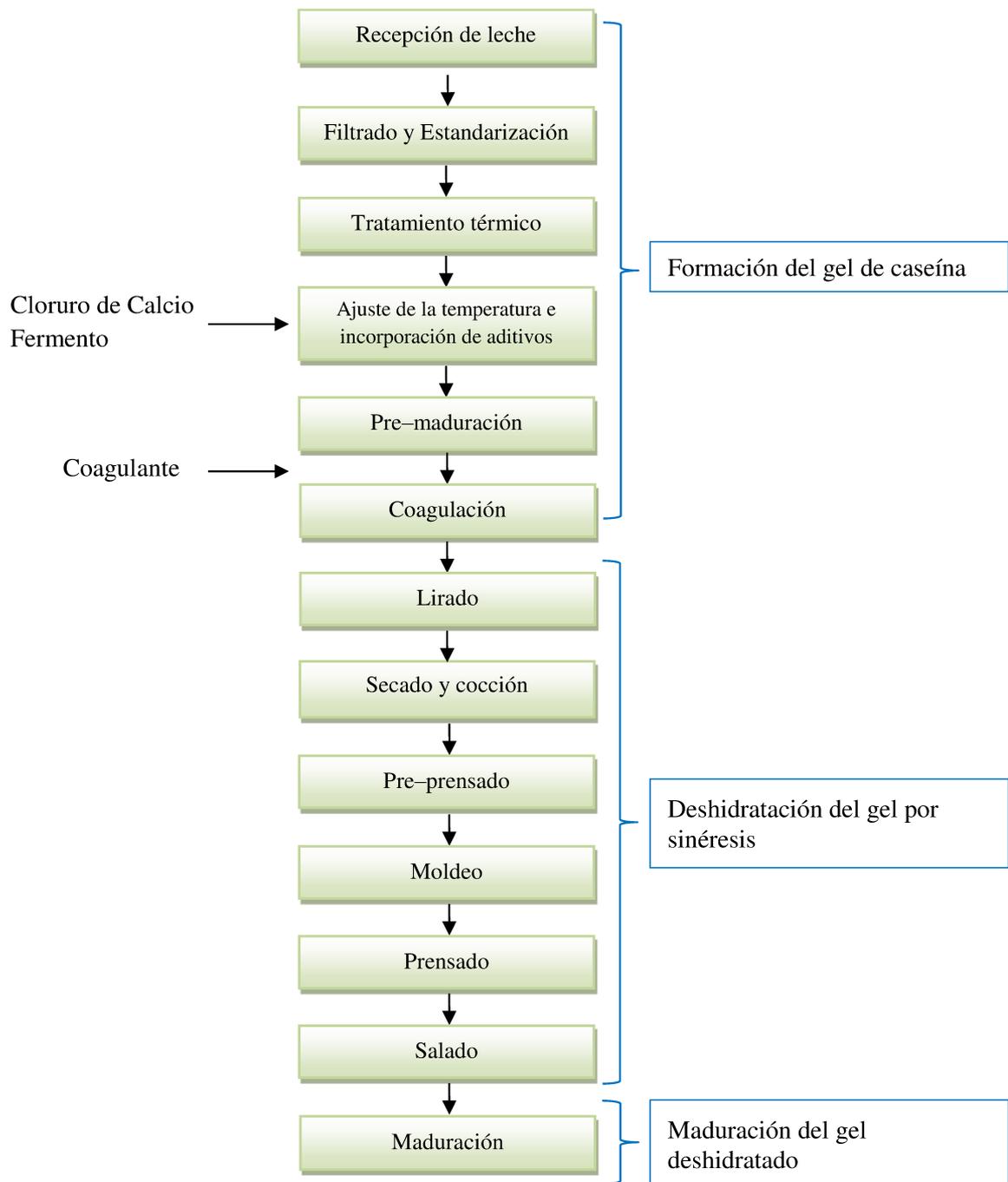


Figura 14: Procedimiento de elaboración de queso.

Esencialmente, la elaboración de quesos consta de dos etapas bien definidas, las que, según la forma en que se realicen, permitirán obtener las distintas variedades con las características que les son propias y que las identifican.

✓ La primera es la *obtención de la cuajada*, a través de la coagulación de la leche y posterior desuerado o deshidratación del coágulo formado (80–90% ocurre en tina de elaboración, el resto del desuerado se realiza en el prensado y el salado). Esta etapa tiene por objetivo la consecución de una matriz con un cuerpo, textura, acidez y humedad deseada, así como la forma que tendrá el producto final.

✓ La segunda es la etapa de maduración de los quesos. Durante ella, los numerosos y diversos equipos enzimáticos presentes (enzimas nativas, de origen microbiano y coagulante residual) actúan secuencialmente sobre los componentes de la leche (proteínas, materia grasa e hidratos de carbono), provocando un complejo fenómeno, al que se conoce como *maduración del queso*.

Por consiguiente, puede decirse que el queso es un “biorreactor” cuya actividad dependerá, no sólo de los múltiples compuestos intervinientes, sino también de las condiciones en que la misma se desarrolle, como por ser la temperatura y humedad ambiental. De este modo, es a través del proceso de maduración que cada tipo de queso adquirirá sus atributos característicos, como ser: sabor, aroma, textura, etc.

1.3.1. Formación del gel de caseína

La obtención del gel de caseína, se realiza en la misma tina quesera, luego de que la leche ha sido previamente acondicionada por medio de las siguientes operaciones:

➤ Filtrado y estandarización de la leche

La aptitud de la leche como materia prima para la elaboración de queso viene determinada en gran medida por las condiciones de producción y ordeño (Gösta Bylund, 2003d). La composición química de la leche y su calidad bacteriológica condicionan la calidad y cantidad del queso elaborado, como así también los procesos de preparación para la elaboración

que terminan influyendo en el producto final. Es por ello que tras el ordeño, la leche se enfría rápidamente para reducir la velocidad de crecimiento de los microorganismos y evitar con ello las modificaciones físico-químicas y microbiológicas que provocan.

En general la leche que llega a las plantas procesadoras arriba filtrada y enfriada. Asimismo, previo a la elaboración es necesario realizar un segundo proceso de depuración física en planta. En primera instancia, una filtración aseguraría la eliminación de al menos las partículas más grandes. No obstante, resulta más eficaz implementar una depuración centrífuga a los efectos de garantizar la separación de aún las partículas más pequeñas.

Básicamente, esta operación consiste en introducir la leche en una centrífuga cuyo rotor gira a gran velocidad (similar a una desnatadora), pero está regulado de tal manera que la grasa no se separa, pero posibilita que las impurezas sedimenten sobre las paredes, donde se depositan en forma de lodo y se eliminan automáticamente (Alais Ch., 1985c; Gösta Bylund, 2003c).

Por otro lado, para ciertos tipos de queso, antes de ser pasteurizada, la leche se estandariza ajustando su tenor graso, mediante la adición de crema o leche descremada, de forma apropiada para obtener el contenido de grasa deseado (Fox P.F., 2017a).

En lo atinente al descremado de la leche, el mismo puede realizarse mediante dos procedimientos:

✓ El *desnatado espontáneo*, también conocido como *afloramiento natural*; es un método muy antiguo en el cual se deja reposar la leche por un tiempo prolongado a bajas temperaturas (7 a 12°C) favoreciendo la formación de racimos voluminosos de glóbulos grasos los cuales afloran a la superficie y pueden ser extraídos. Es un procedimiento bastante imperfecto, pero el único conocido hasta 1880 (Alais Ch., 1985c; Gösta Bylund, 2003c; Spreer E., 1998a).

✓ El *desnatado centrífugo* es un proceso donde los glóbulos de grasa de la leche y los sedimentos de impurezas comienzan a separarse según la densidad relativa con respecto al medio continuo que es la leche desnatada (Gösta Bylund, 2003c). La leche se calienta a 45–50°C y se introduce a la desnatadora que gira a gran velocidad. La leche descremada y diversas partículas densas se proyectan hacia la pared, mientras que la crema se acumula en la parte más cercana al eje de rotación. Las impurezas son recolectadas y eliminadas del equipo (por orificios calibrados) a medida que se van formando. Por su parte la leche descremada y la crema salen por

separado, por la parte superior del equipo (Alais Ch., 1985c; Gösta Bylund, 2003c; Spreer E., 1998a).

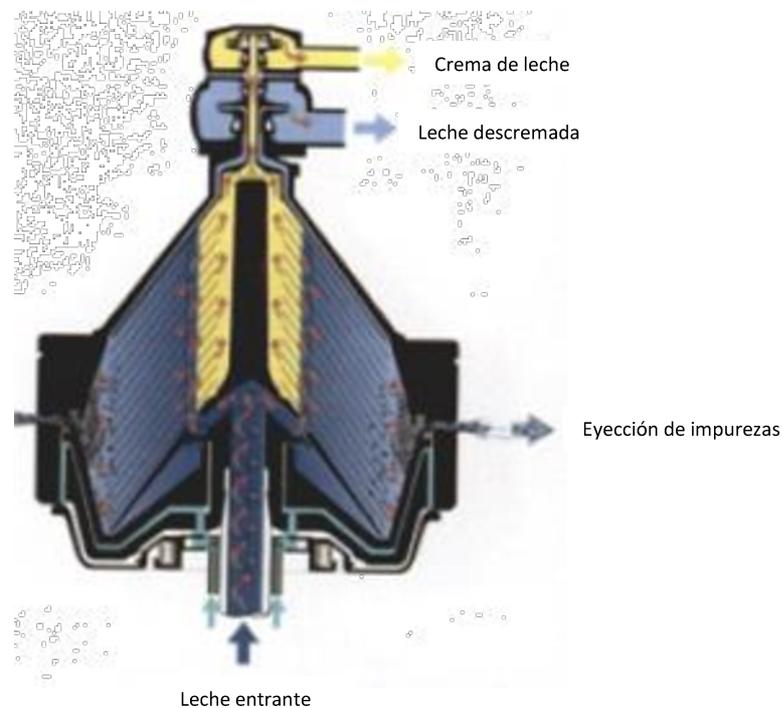


Figura 15: Separador centrífugo – Fuente: Gösta Bylund, 2003c.

➤ Tratamiento térmico

El tratamiento térmico es una combinación de tiempo y temperatura, que puede ir desde una termización hasta la propia pasteurización, según el objetivo que se persiga.

Las relaciones temperatura/tiempo adoptadas revisten gran importancia, por cuanto, a través de ellas, se define la intensidad del tratamiento térmico y, por ende, su efectividad. Así, por ejemplo, si bien la aplicación de un tratamiento térmico fuerte en la leche es deseable desde el punto de vista microbiológico, éste puede conducir a un aumento en el riesgo de aparición de defectos en el sabor, valor nutritivo y apariencia del producto. A su vez, un tratamiento a temperaturas elevadas (por ejemplo, superiores a los 65°C) provocará una desnaturalización de las proteínas solubles, las cuales, al interactuar con las caseínas (por ejemplo, la formación de un complejo entre β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina con κ -caseína) afectarán su aptitud a la coagulación (Calvo M. et al, 1995; Mintilla A. et al, 1995; Steffl A. et al, 1999; Corredig M. and

Dalgleish D.G., 1996a; Corredig M. and Dalgleish D.G., 1996b; Candioti M. et al, 2004; Meinardi C. et al, 2004/05; Candioti M. et al, 2004/05).

Por tanto, la elección de la composición temperatura–tiempo debe ser optimizada para conseguir un efecto adecuado, tanto del punto de vista microbiológico, como desde el punto de vista de la calidad del producto (Gösta Bylund, 2003b).

En la Tabla IX se muestran las condiciones de temperatura y tiempo correspondientes a los tratamientos térmicos de mayor difusión en la industria quesera.

Tabla IX. Categorías de tratamiento térmico de la leche para quesos – Fuente: Gösta Bylund, 2003b.

| Proceso | Temperatura | Tiempo |
|----------------------------|-------------|----------------|
| Termización | 63–65°C | 15 segundos |
| Pasteurización baja (LTLT) | 63°C | 30 minutos |
| Pasteurización alta (HTST) | 72–75°C | 15–20 segundos |

✓ Termización

La termización implica un tratamiento térmico moderado, en el cual la leche se calienta hasta unos 63–65°C durante 15 segundos, e inmediatamente se la enfría hasta $\pm 4^\circ\text{C}$. Esta técnica se introdujo con el fin de destruir la flora psicrotrófica que puede alterar la leche cuando ésta se almacena durante 12–48 horas en planta (Gösta Bylund, 2003b). Por otro lado, vale aclarar también que, dado que este procedimiento resulta insuficiente para inactivar la fosfatasa alcalina, que es la enzima nativa de la leche empleada como control de la pasteurización, su determinación, a diferencia de esta última, da un valor positivo.

✓ Pasteurización

La pasteurización, muy generalizada en quesos industriales y menos en quesos artesanales, tiene por objetivo general destruir, mediante un apropiado empleo del calor, la totalidad de la flora patógena presente en la leche (Gösta Bylund, 2003b; Spreer E., 1998a; Fox

P.F., 2017). Asimismo, mediante este tratamiento, también se reduce la concentración de la microflora nativa, incluyendo las bacterias ácido lácticas no provenientes del fermento (NSLAB, según su sigla en inglés) (Walstra P.F. et al, 2006d; McSweeney P.L.H. et al, 1993).

La pasteurización LTLT, conocida como método de baja temperatura, largo tiempo (acrónimo del inglés Low Temperature / Long Time), consiste en mantener la leche durante 30 minutos a 63°C (Gösta Bylund, 2003b). Esta metodología es utilizada en producciones discontinuas y/o artesanales, donde el tratamiento se realiza directamente en tina.

Por el contrario, a nivel industrial, el tratamiento más comúnmente utilizado es la pasteurización HTST o método de alta temperatura, corto tiempo (acrónimo del inglés High Temperature / Short Time) (Gösta Bylund, 2003b). En este caso, la operación se lleva a cabo en un intercambiador de calor a placas (Figura 16), lo que representa un sistema de alta eficiencia, donde no se generan tiempos de incubación de microorganismos, especialmente para las bacterias termófilas que sobrevivan (Dilanjan S.Ch., 1970).

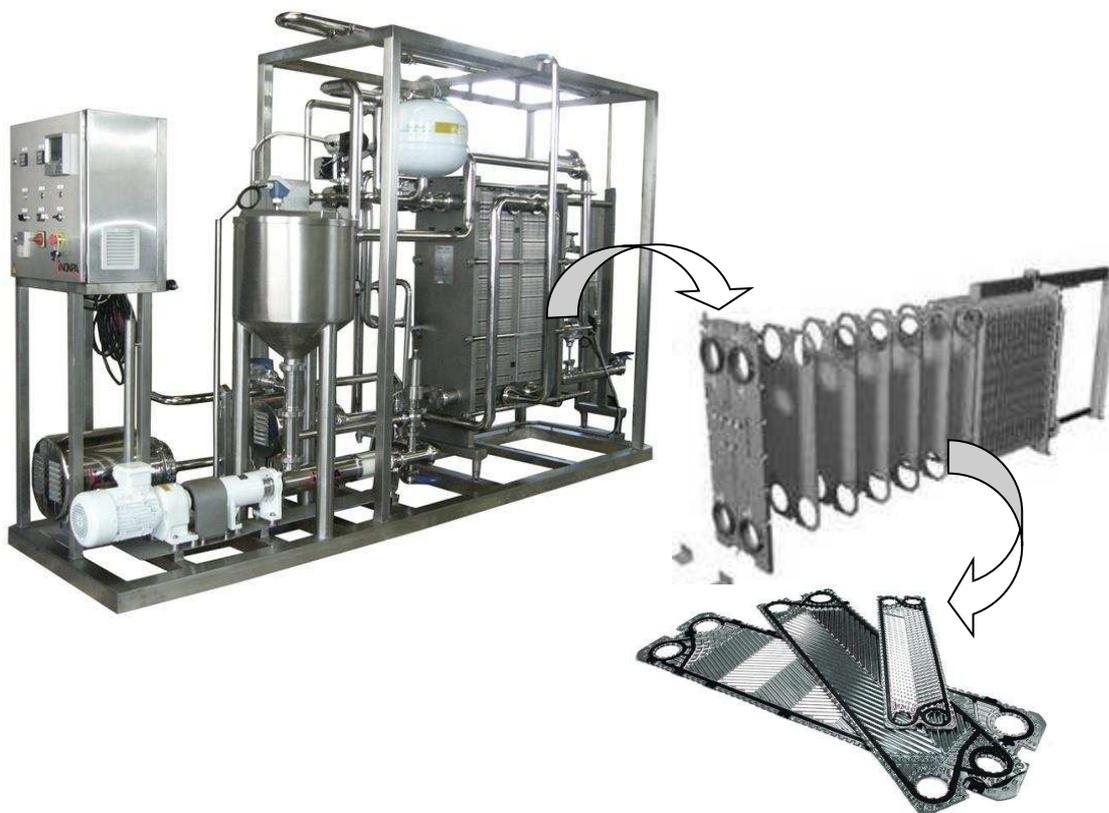


Figura 16: Intercambiador a placas utilizado para la pasteurización HTST de la leche.

Además de su elevada eficiencia, mediante el empleo de estos equipos, se tiene la ventaja de que se evita la formación de espuma, lo cual es uno de los principales inconvenientes que se presenta cuando la pasteurización se realiza en la misma tina, por cuanto las proteínas responsables de este fenómeno (sueroproteínas) no reciben el tratamiento térmico correcto y, por ende, no se puede garantizar la destrucción total de las bacterias patógenas, tal como se puede apreciar en la Figura 17 (Dilanjan S.Ch., 1970).



Figura 17: Pasteurización en tina, donde se puede apreciar el inconveniente de la formación de espuma producida por las proteínas del suero.

Conjuntamente con la destrucción de microorganismos, la pasteurización provoca la desnaturalización de ciertas enzimas nativas en la leche, particularmente, la lipasa natural de la leche y la fosfatasa alcalina, tal como se muestra en la Figura 18 (Walstra P.F. et al, 2006a; Walstra P.F. et al, 2006d; Fox P.F. et al, 2015). En virtud de ello, la determinación de la actividad de esta segunda enzima, es el método tradicional de control de una correcta pasteurización de la leche, ya sea LTLT o HTST. Así, en una leche bien pasteurizada, la fosfatasa alcalina debe resultar inactivada y, por ende, la determinación de su actividad debe dar negativa (Spreer E., 1998a; Gösta Bylund, 2003b; Walstra P. et al, 2006d; Bachmann H-P et al, 2011; Fox P.F. et al, 2015). Obviamente, un resultado positivo, sería indicador de que no se alcanzaron las condiciones que establece este tratamiento.

La legislación argentina plantea que los quesos con períodos de maduración inferior a los 60 días, deben elaborarse con leche pasteurizada (ANMAT, 2014).

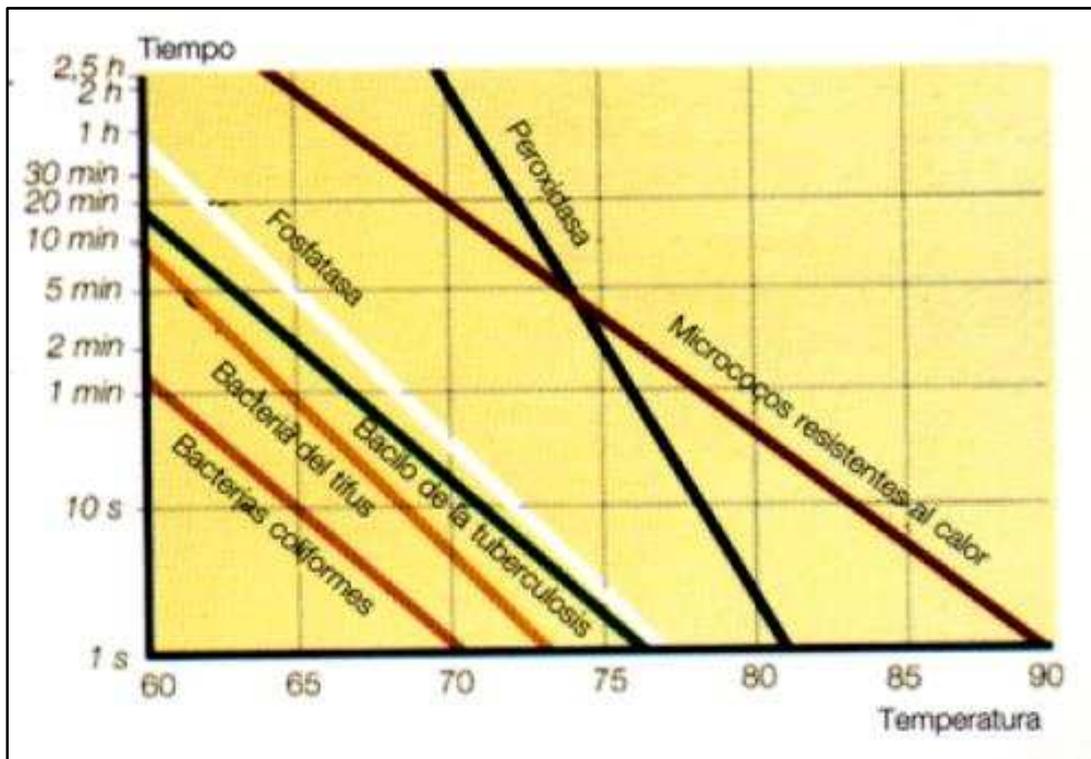


Figura 18: Curvas tiempo vs temperatura de destrucción de enzimas y microorganismos—
Fuente: Gösta Bylund, 2003b.

➤ Incorporación de aditivos

Si bien los aditivos esenciales en el proceso de fabricación del queso son los fermentos y el cuajo, en ciertas condiciones puede ser también necesario incorporar otros componentes tales como cloruro de calcio, nitrato de sodio o potasio y/o colorantes, todos ellos tendientes a mejorar la calidad del producto final.

En general, estos aditivos son agregados a la leche luego de la pasteurización y posterior enfriamiento hasta la temperatura propia del queso que se desea elaborar. Cada uno de ellos tiene ciertas funciones definidas:

- **Cloruro de calcio:** la finalidad de este aditivo es reemplazar el calcio que se perdió en la leche durante la pasteurización y que facilita la acción del coagulante, dando lugar a un coágulo de mayor firmeza y aumentando así el rendimiento. Si bien el Código Alimentario Argentino no establece una cantidad determinada, tradicionalmente a nivel industrial se han empleado a razón de unos 200 gramos cada 1000 litros de leche. Es importante tener en cuenta que, un agregado excesivo de cloruro de calcio, podría provocar el defecto de gusto amargo en los quesos (Castañeda R. y col., 2005a).

- **Nitrato de sodio o potasio:** el propósito del agregado de nitratos es evitar el defecto denominado “hinchazón tardía en quesos duros” o “hinchazón precoz en quesos de pasta blanda”. Su accionar consiste en inhibir microorganismos como clostridios (esporulados) y coliformes productores de ojos anormales y defectos en el sabor y olor. Al respecto, el Código Alimentario Argentino, en su Artículo 605 (Capítulo VIII), fija, para quesos de mediana y baja humedad, una dosis de 50 mg/Kg de queso (como NaNO_3 o KNO_3 , en forma individual o combinada), como conservador.

Cabe aclarar que el uso de nitratos no es obligatorio y depende de la calidad de la materia prima, algo que en la actualidad se tiene bajo control. En efecto, trabajar higiénicamente y tomándose las precauciones de limpieza son parámetros que ayudan a no incorporar nitratos (Castañeda R. y col., 2005a).

- **Colorante:** el uso del colorante es una práctica común en ciertos tipos de quesos en los que se desea resaltar el color, o en aquellos quesos que se pretende que tengan cierta tonalidad más atractiva para el consumidor. Sin embargo, en ciertos casos, la incorporación de este tipo de aditivo puede resultar de utilidad para disimular o enmascarar eventuales defectos de coloración en la pasta.

El uso de sustancias colorantes tales como, carotenoides naturales, clorofila, cúrcuma, curcumina, riboflavina, etc, está admitido por el Código Alimentario Argentino y la cantidad depende del color deseado, pero en general varía alrededor de 10–80 mg cada 1000 litros de leche (Castañeda R. y col., 2005a).

- **Agregado de fermento**

Mediante la incorporación de fermentos lácticos o estárter se logra la repoblación de la leche pasteurizada con microorganismos de características tecnológicas conocidas.

Luego de la coagulación, estas bacterias quedan mayormente retenidas en la cuajada, donde se multiplican durante el prensado de los quesos, cumpliendo con dos funciones esenciales:

✓ Disminuir el pH del medio a una velocidad y nivel determinados, a partir de la metabolización de la lactosa, con producción de ácido láctico. Esta acción mejora el proceso de coagulación de la leche, confiere resistencia a la cuajada y protege al producto final contra la contaminación. No obstante, en las cuajadas preponderantemente enzimáticas, en las que se procura que la matriz casearia mantenga un alto grado de mineralización, técnicamente, este proceso se ve temperado, dado que la acidificación, además de reducir el tiempo de coagulación, por efecto de intercambio iónico, produce una importante migración de las sales coloidales hacia el medio acuoso, como se describe en el Punto 1.3.2: Deshidratación del gel (Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998).

✓ Contribuir al desarrollo de las características organolépticas del queso, liberando al medio, sistemas enzimáticos que participan de forma directa o indirecta durante el proceso de la maduración. En efecto, a través del metabolismo de los carbohidratos, la proteólisis y, en menor proporción, la lipólisis llevadas a cabo por las bacterias lácticas, coadyuva al desarrollo del flavor del queso (Fox P.F. et al, 1993; Choisi C. et al, 1997; Fox P.F et al, 2017). Por lo tanto, el tipo de bacterias agregadas dependerá siempre de la variedad de queso a elaborar (Zalazar C., 1994; Fox P.F and McSweeney P.L.H., 1996; Candioti M. et al, 2002a; Candioti M. et al, 2002b; McSweeney P.L.H., 2003; McSweeney P.L.H. and Fox P.F, 2003; Perotti M.C. et al, 2004; Reinheimer J.A. y Zalazar C., 2006).

Según su temperatura óptima de crecimiento, los fermentos se pueden clasificar en mesófilos, es decir aquellos que desarrollan a temperaturas de entre 20 y 30°C y termófilos, los que lo hacen a temperaturas que van de 35 a 45°C, siendo estos últimos los de mayor difusión en la industria quesera.

Por otro lado, desde el punto de vista de su origen, los fermentos pueden ser Naturales (de leche o de suero) o Seleccionados (de adición directa o semidirecta), presentando cada uno de ellos ventajas y desventajas.

Los fermentos naturales son aquellos que se preparan en planta, por lo que sus características tanto microbiológicas como fisicoquímicas, dependen de la zona, la alimentación,

estación del año, etc. Son asociaciones microbianas muy complejas y robustas, cuya composición total no es posible conocer con exactitud, dado que, si bien la cantidad de especies es baja, el número de cepas es sumamente elevado. Entre las principales ventajas que presenta este tipo de fermento, se pueden mencionar su bajo costo, y su elevada resistencia a infecciones fágicas. Sin embargo, también pueden presentar ciertas desventajas tales como la posibilidad de sufrir eventuales contaminaciones con flora no láctica, o bien experimentar variaciones en su composición que, además de modificar el grado y velocidad de acidificación, pueden conducir a cambios en la calidad del producto final.

En general, las leches fermento, en las que predominan cepas de *Streptococcus thermophilus*, se emplean en la elaboración de quesos blandos y semiduros, mientras que los suerofermento, donde prevalecen cepas de *Lactobacillus helveticus*, se utilizan para la fabricación de quesos duros.

En cuanto a los fermentos seleccionados, a diferencia de los precedentes, se los puede adquirir comercialmente, y su dinámica de uso es más sencilla, dado que se los adiciona directamente a la leche pasteurizada y enfriada. Su composición es bien conocida, dado que están formados por bacterias mesófilas y termófilas, de una o más especies lácticas y bajo número de cepas (que se encuentran en simbiosis), perfectamente identificadas, con lo cual se asegura una constancia en su comportamiento tecnológico (principalmente su capacidad acidificante, actividad proteolítica y lipolítica) y, de ese modo, se garantiza uniformidad en las elaboraciones (Gösta Bylund, 2003d; Castañeda R. y col., 2005a).

Debe tenerse en cuenta que, por lo general, tras su incorporación a la leche, estos fermentos requieren un tiempo de pre-maduración, para que las bacterias comiencen a reproducirse (Castañeda R. y col., 2005a).

Por otro lado, la adopción de cultivos seleccionados, presenta la desventaja de que resultan altamente sensibles a eventuales ataques por bacteriófagos, lo cual genera una continua investigación orientada a la obtención de cepas más resistentes.

Finalmente, cabe mencionar que los cultivos iniciadores que se emplean normalmente, por lo general son los mismos, independientemente del tipo de leche con que se esté trabajando (vaca, oveja o cabra) (Mendía C. et al, 1999; Castillo I. et al, 2007; Tabeada N., 2014).

➤ Coagulación de la leche

La coagulación de la leche es, sin dudas, una de las etapas tecnológicas más importantes y, por ello, decisiva en el proceso de elaboración de quesos. En efecto, independientemente de la escala con que se trabaje, es decir, ya sea artesanal o industrialmente, la obtención de los sólidos de la leche, requiere, insoslayablemente, un cambio en su estado de agregación, pasando de la forma líquida natural a la de gel. De este modo, todos los constituyentes de la leche quedan retenidos en una red proteica tridimensional, cuyas características dependerán de la forma en que fue originada. En efecto, si bien la obtención del coágulo lácteo puede realizarse por vía ácida o por vía enzimática, los productos obtenidos presentan estructuras muy distintas.

▪ Desestabilización ácida de la leche

Básicamente consiste en precipitar las caseínas disminuyendo el pH de la leche hasta el punto isoeléctrico de las mismas: 4,60 (Alais Ch., 1985d; Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Walstra P. et al, 2006d; Fox P.F. et al, 2015), lo cual da lugar a la formación de un gel que ocupa todo su volumen. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que esta inestabilidad por pH se encuentra fuertemente influenciada por la temperatura, por cuanto se ha encontrado que, a menos de 5°C, la precipitación prácticamente no ocurre, y sólo se forman finos que quedan en suspensión y aumentan ligeramente la viscosidad (Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Walstra P. et al, 2006d) mientras que a altas temperaturas la caseína puede precipitar en un rango de pH que puede ir desde 3,0 a 5,5.

Dado que a $\text{pH} < 5.0$, las micelas pierden su carga mineral (por disolución del fosfato de calcio coloidal), como se puede apreciar en el esquema presentado en la Figura 19, algunos investigadores asumen que éstas ya no pueden mantener su estructura original. Por el contrario, otros autores, afirman que aún desmineralizadas, las micelas pueden permanecer como tales y asociadas, probablemente debido a la disminución de la carga o por un aumento en las interacciones hidrofóbicas. En este sentido, se ha demostrado que, aún después de la coagulación ácida, las micelas mantienen su apariencia por horas o días (Fox P.F. et al, 2015).

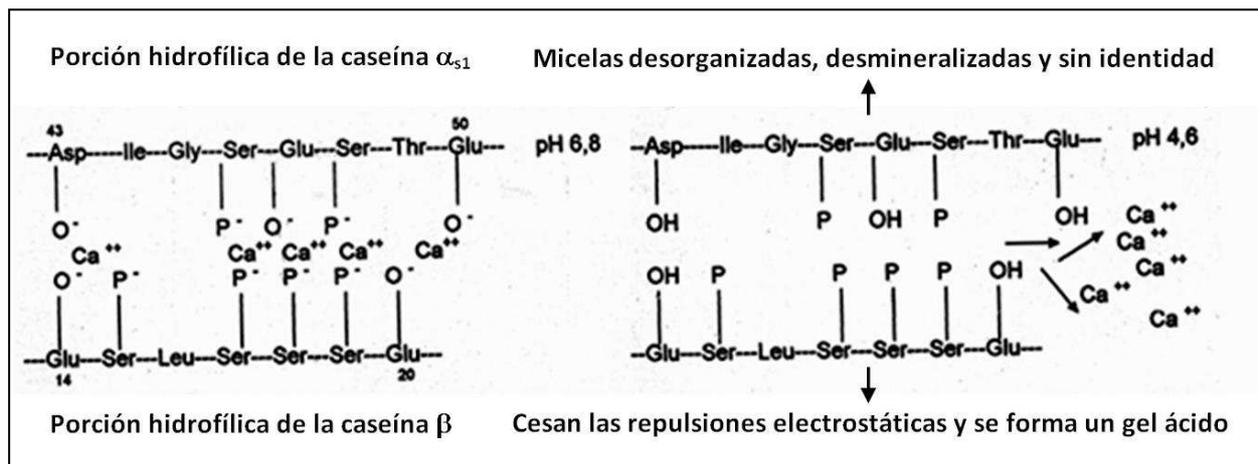
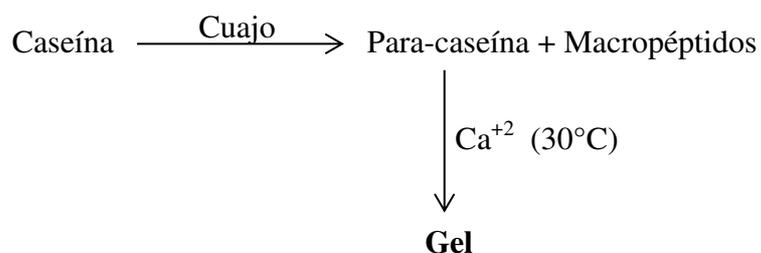


Figura 19: Desestabilización ácida de la leche, indicando la descalcificación de la micela.

En lo que respecta a las características del gel obtenido, al ser relativamente frágiles las fuerzas que mantienen ligadas a sus unidades (interacciones de naturaleza electrostática e hidrofóbica), un coágulo ácido resulta friable, y carente de fuerza de contracción, no apto para la caseificación (Zalazar C.A., 1994).

- Coagulación enzimática de la leche

Esencialmente, la coagulación enzimática de la leche involucra una modificación de las micelas de caseína, a través de una proteólisis limitada, llevada a cabo por proteasas seleccionadas, comúnmente llamadas cuajo, dando como resultado Para-caseína y Macropéptidos, lo cual se conoce como *Fase primaria*. A continuación se produce una agregación de las micelas alteradas, inducida por la presencia de calcio, denominada *Fase secundaria* de la coagulación enzimática. Esquemáticamente se puede representar:



Durante la *Fase primaria*, se produce una profunda modificación en la organización micelar, debido a la acción específica ejercida por el cuajo sobre la κ -caseína. En efecto, como ya se mencionó, dada su insensibilidad a los iones Ca^{+2} (a diferencia de las caseínas α_{s1} , α_{s2} y β), esta proteína se localiza preferentemente en la superficie de las micelas (orientando su región hidrofílica al medio), ejerciendo un rol de coloide protector sobre las mismas. En forma muy sintética se puede decir que cuando el cuajo hidroliza el enlace peptídico $\text{Phe}_{105}\text{-Met}_{106}$, de la κ -caseína, se libera ese segmento hidrofílico $\kappa\text{-CN}$ (f106-169), conocido como Glicomacropéptido (GMP) o Caseína-macropéptido (CMP), mientras que el resto de la molécula, denominado para- κ -caseína permanece unida a la micela. Bajo estas condiciones, se pierde el efecto protector que la κ -caseína ejerce sobre las micelas, quedando expuestas las zonas sensibles al calcio Ca^{+2} por lo que en presencia de éste, comienzan a agregarse espontáneamente, dando como resultado un gel que abarca la totalidad del volumen reaccionante. Es importante destacar que, a estas uniones intermicelares a través de iones Ca^{+2} , se suman interacciones hidrofóbicas propiciadas por la reducción, tanto en la carga superficial como en la estabilización estérica, que produce la hidrólisis de la κ -caseína.

En la Figura 20, se puede observar una representación esquemática del fenómeno de coagulación de la leche, conjuntamente con su incidencia en la viscosidad de la misma.

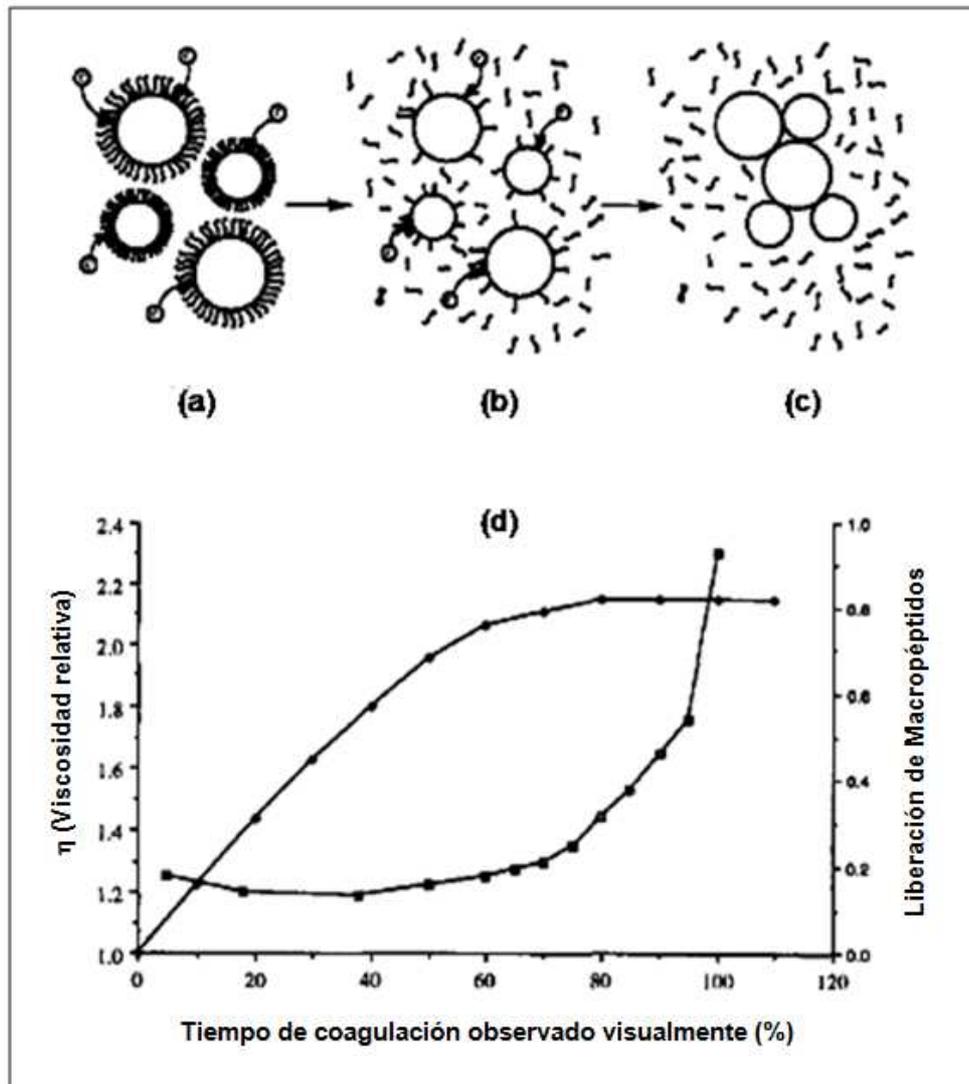


Figura 20: Representación esquemática de la coagulación de la leche. (a) Micelas de caseína con recubrimiento de κ -caseína intacta, siendo atacadas por quimosina. (b) Micelas con la κ -caseína parcialmente hidrolizada. (c) Micelas con la κ -caseína extensamente hidrolizada, en proceso de agregación. (d) Liberación de macropéptidos (◆) y cambios en la viscosidad (■) durante el curso de la coagulación enzimática.

Por otro lado, cabe señalar también que, un aumento en la acidez tiene una relación directa con la disminución del tiempo de coagulación enzimática de la leche, la cual, como ya se indicó, se ve favorecida con la disminución del pH de la misma. (Scott R., 1991).

- Coagulación de la leche en la elaboración de quesos

Si bien, tanto en la coagulación ácida como en la coagulación enzimática de la leche, se produce el cambio de su estado líquido al de gel, las características, tanto estructurales como sensoriales, del coágulo obtenido en ambos casos, son sustancialmente diferentes. Es por ello que, en la elaboración, de prácticamente todos los quesos, se usa un sistema de coagulación mixto, en el que predominará un mecanismo u otro, según las propiedades del producto que se quiera lograr.

Por lo general, se realiza una acidificación suave, aportada por bacterias lácticas o fermento primario (estárter), y luego se coagula más o menos rápidamente por acción enzimática (Gauna A., 2005).

Es primordial tener en cuenta que, tanto las condiciones en que se produce la coagulación (cantidad de enzima coagulante, contenido de calcio de la leche, tiempo, temperatura), como así también la forma en que se manipula el gel obtenido (período de adquisición de firmeza, corte, tamaño de grano, agitación, temperatura de cocción, etc.), tienen un impacto directo, no sólo en la calidad del producto, sino también en el rendimiento quesero, ya que, si se malogra esta serie de acciones combinadas unas con otras, habrá una alta probabilidad de pérdida de proteínas en suero, comúnmente conocida “pérdida por finos”.

De lo expuesto, puede inferirse que, una correcta elección del coagulante a emplear, como así también de las condiciones operativas, con miras a lograr un óptimo proceso, reviste una gran importancia, independiente al tipo de escala y al grado de tecnología adoptada.

- Tipos de coagulantes

Durante siglos, el coagulante más utilizado ha sido el cuajo animal (enzima renina extraída del cuarto estómago de los rumiantes lactantes). Sin embargo, las dificultades para el abastecimiento de cuajo, sumadas al avance tecnológico y a los requerimientos industriales, favorecieron el desarrollo de diversos tipos coagulantes, provenientes de diferentes fuentes de obtención. Entre los más difundidos se encuentran los de origen animal (quimosinas/pepsinas bovina y porcina), de origen microbiano (proteasas fúngicas y bacterianas) o vegetal (flores de *Cynaracardunculus*, etc.).

a. Coagulantes de origen animal: Cuajo

El cuajo, comprende un conjunto de enzimas pertenecientes al grupo de las proteasas aspárticas, es decir, aquellas que involucran dos residuos aspárticos en su centro activo que, conjuntamente, facilitan el ataque de una molécula de agua al enlace peptídico (Berg J.M., 2008):

- Renina: la renina o quimosina bovina (E.C. 3.4.23.4), es el principal componente de los cuajos de ternero mamón. Esta enzima es secretada por el abomaso (estómago verdadero de los rumiantes jóvenes) en forma inactiva: la proquimosina como proenzima, en las formas A y B, las que sólo difieren en un aminoácido de la secuencia (sustitución de un Asp por Gly en la posición 290). La forma inactiva o zimógena se activa autocatalíticamente a pH ácidos (a pH 2, la activación es instantánea) por liberación de un péptido N-terminal (Ferradini E. et al, 2007). Es una holoproteína (no contiene átomos de fósforo ni de metal, ni de glúcidos), de P.M. 34.400, que puede obtenerse pura y cristalizada, por repetidas precipitaciones en cloruro de sodio (Hofmann T., 1974; Alais Ch., 1985d). Es una proteasa ácida, cuyo pH óptimo de actividad proteolítica depende del sustrato, por ejemplo, es 3,4 sobre la hemoglobina y se acerca a 4,0 sobre la caseína. La acción específica de la quimosina sobre una cadena peptídica consiste en producir la hidrólisis de enlaces entre aminoácidos preferentemente hidrofóbicos, especialmente los que se dan entre la leucina y la fenilalanina (Choisy C. et al, 1990).

- Pepsina: el término pepsina bovina, sin ninguna especificación, se refiere a la pepsina bovina II o A (EC. 3.4.23.1), puesto que si bien existe una pepsina bovina I o B (EC. 3.4.23.2), esta es minoritaria. Ambas se distinguen por la velocidad de inactivación en presencia de urea (Alais Ch., 1985d). Al igual que la quimosina, la pepsina es secretada por la mucosa del abomaso (cuarto estómago), en forma zimógena, la cual sufre una autoactivación a pH 2, que involucra una hidrólisis limitada que conduce a la liberación un péptido de 45 aminoácidos de la zona del nitrógeno terminal (Harboe M. et al, 1974).

En cuanto a la actividad específica, es sabido que las pepsinas cortan uniones peptídicas donde participan aminoácidos con largas cadenas hidrofóbicas, como leucina (Schmidt D.G. and Van Markwijk B.W., 1993), y preferentemente aromáticos, como fenilalanina (Hofmann T., 1974).

Los cuajos provenientes de animales rumiantes, presentan una relación enzimática entre quimosina/pepsina de ~80%–20% respectivamente. Sin embargo, a medida que los animales crecen y comienzan con la ingesta de pasturas, esta relación se invierte, pasando a ser del orden de un 20% para la quimosina y un 80% para la pepsina (Andrén A., 2011). Asimismo, se ha demostrado también que secreción de zymogenos en la mucosa gástrica, además de estar significativamente afectada por la edad, también se encuentra muy influenciada por la dieta del animal, tal como se puede ver en la Tabla X (Andrén A., 2011; Moschopoulou E., 2011).

Tabla X: Influencia de la alimentación y la edad en la proporción (%) de quimosina o pepsina (analizadas por su actividad coagulante en leche a pH 6,5), en extractos de abomaso bovino.

| Alimentación | Edad (meses) | Quimosina (%) | Pepsina (%) |
|---|--------------|---------------|-------------|
| Ternero alimentado o amamantado con leche | <3 | 90 | 10 |
| Becerro lactante y alimentado con pastos | 6 | 75 | 25 |
| Ternero alimentado con concentrados* | 6 | 30 | 70 |
| Vaca alimentada con concentrados y heno | >24 | Trazas | 100 |

*Concentrados: Son mezclas de granos y residuos de algunas industrias, con baja cantidad de fibra y altos contenidos de energía, cuya composición, balanceada según la edad del animal, aporta los principales nutrientes que éste necesita.

Por lo tanto, si bien ambas enzimas estarán siempre presentes en el cuajo, su proporción variará con la peculiaridad del animal, lo cual es importante tener en cuenta, dado que la pepsina exhibe una menor actividad específica y poder coagulante que la quimosina.

Por otro lado, existen también coagulantes de leche, obtenidos a partir de animales no rumiantes, como es el caso de la pepsina porcina y pepsina de pollo, los que son utilizados en algunos países debido a cuestiones culturales–religiosas como por ejemplo el Estado de Israel y República Checa. La utilización de estas enzimas en la elaboración de quesos, conduce al desarrollo de características de textura, aroma y sabor muy diferentes a las obtenidas cuando se emplea cuajo bovino (Ferradini E. et al, 2007).

La pepsina porcina se utiliza en Estado Unidos, mezclada con pepsina bovina y quimosina, aunque en forma muy limitada debido a que su actividad es altamente dependiente

del pH. En efecto, dado que su pH óptimo es cercano a 2 (no coagula la leche a su pH normal), que es un valor muy lejano al de un queso, su contribución a la proteólisis durante la maduración es muy escasa (Zalazar C., 1994).

Por otro lado, también se han implementado como coagulantes, extractos de abomaso de ovinos y caprinos (aunque con bastante menor difusión que los de bovino), en los que la proporción de quimosina y pepsina se espera que sea igualmente dependiente de la edad y régimen de alimentación de los animales de los que se extraigan (Andrén A., 2011).

Una práctica muy difundida en quesería, especialmente en Europa, es la utilización del cuajo animal en pasta. Este tipo de producto, preparado generalmente por los maestros queseros en forma artesanal, posee una composición enzimática ampliamente variable, por cuanto la misma, como ya se mencionó, se ve afectada por la edad del animal, tipo de alimentación, métodos de extracción, manipulación, conservación, etc., lo cual, indudablemente, condiciona mucho su actividad coagulante (Moschopoulou E., 2011). Sin embargo, la presencia de ciertas lipasas que se suman a las enzimas proteolíticas, contribuye al desarrollo del flavor propio del queso, el cual no puede lograrse con otros coagulantes, o en diferentes regiones de elaboración. En este sentido, uno de los coagulantes de mayor aplicación en regiones europeas para la fabricación de queso de oveja, es el cuajo en pasta de cabrito, el cual es utilizado en el 80% de las fábricas tradicionales de Catanzaro, región de Calabria, Italia (Moschopoulou E., 2011). Esto se debe al rol fundamental que cumple este coagulante durante la maduración del queso. En efecto, se ha encontrado que en este tipo de cuajo, además de estar presente la proteasa responsable de la coagulación de la leche, también se encuentran activos otros equipos enzimáticos que dan lugar a la formación de las sustancias sápidas y aromáticas propias del producto, como es el caso de las lipasas, que generan ácidos grasos libres (principalmente de cadena corta) que aportan al queso un característico sabor picante (Virto M. et al, 2003; Castillo I. et al, 2007).

En virtud de lo expuesto, se puede decir que los coagulantes en pasta poseen determinadas características que les confieren una cierta particularidad con respecto a otros cuajos del tipo comercial. Por ejemplo, Ferrandini E. et al (2007) exponen las diferencias en los resultados fisicoquímicos, microbiológicos y reológicos, obtenidos entre quesos elaborados con cuajo natural en pasta de cordero y cuajo comercial, en especial el menor tiempo de maduración requerido por los primeros. Por esta razón, la mayor utilidad de estos coagulantes corresponde a

quesos elaborados bajo denominación de origen controlada, en los que se respetan estrictos protocolos que sólo permiten el uso del cuajo animal en pasta, obtenido según las pautas tecnológicas autóctonas y propias de cada región. En general, los cuajos de cabra u oveja son tradicionalmente utilizados en países del sureste europeo, para la fabricación de quesos en los que se emplea la misma leche de dichas especies, bajo denominación de origen como, por ejemplo, Idiazabal y Roncal, en España, Pecorino Romano, Provolone picante, Fiore Sardo y Canestrato Pugliese, en Italia y queso Feta, en Grecia. (Zalazar C., 1994; Moschopoulou E., 2011).

b. Coagulantes de origen microbiano

Como ya se indicó, debido a la limitada disponibilidad y elevado costo del cuajo de ternero mamón, se han desarrollado sustitutos del mismo, obtenidos a partir de distintas fuentes (Andrén A., 2011). Entre los más destacados se encuentran aquellos de origen microbiano, los que actualmente abarcan una fracción considerable de la demanda de enzimas coagulantes de todo el mundo.

Los primeros coagulantes de origen microbiano que se implementaron fueron los obtenidos por fermentación a partir de distintos microorganismos, como por ejemplo las enzimas fúngicas con capacidad de coagular la leche, provenientes de *Rhizomucor miehei*, (EC.3.4.23.23), *Rhizomucor pusillus*, (EC.3.4.23.23) y *Cryphonectria parasítica* (antiguamente conocida como *Endotia parasítica*), (EC 3.4.23.22) (Aehle W., 2007).

De estas proteasas, la producida por *C. parasítica* es la que presenta la mayor actividad, habiéndose evidenciado que su concentración residual en quesos no calentados (ya que siendo termolábil se destruye durante la cocción) produce una notable acumulación de péptidos amargos, derivados principalmente de su acción sobre la β -caseína, por lo que prácticamente ha caído en desuso (Quijano Velazco J.D., 2010).

Paralelamente, también se han reportado enzimas coagulantes producidas por bacterias tales como *Bacillus cereus*, *Bacillus polimixas*, *Bacillus mesentericus*, etc., pero éstas existen como parte de mezclas crudas que contienen otras enzimas altamente proteolíticas que son nocivas para las características de los quesos (Zalazar C., 1994).

Por otro lado, el rol preponderante que cumple el cuajo de ternero mamón, ha inducido a los científicos a emplear técnicas de ingeniería genética para obtener quimosina, la cual, como ya

se mencionó, es su principal enzima. Por consiguiente, a partir de 1988, ingresó al mercado un nuevo grupo de coagulantes, obtenidos mediante microorganismos genéticamente modificados, conocidos comercialmente como quimosinas producidas por fermentación, y denominadas por la International Dairy Federation como FPC (acrónimo del inglés, Fermentation Produced Chymosin). Básicamente, el gen que codifica la producción de pro-quimosina bovina tipo B (aislado del cuarto estómago de un ternero mamón) se implanta en el genoma de una levadura como *Kluyveromyces lactis* o de hongos tales como *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* (Andrén A., 2011). La enzima se sintetiza en forma de pro-quimosina, que se activa tras el lisado de las células, una vez detenida la fermentación. Si bien la cadena polipeptídica obtenida por esta vía, es evidentemente idéntica a la de la quimosina bovina, la glicosilación de la misma es distinta.

En lo que respecta a la quimosina tipo A, aunque ésta ha sido clonada y expresada en *E. coli*, no tiene una gran disponibilidad comercial.

Recientemente, Kappeler S.R. y colaboradores (2006), expresaron el gen que codifica la quimosina de camello (*Camelus dromedarius*) en *Aspergillus niger* y produjeron quimosina de camello por fermentación, conocida como “quimosina de camello recombinante”. Esta quimosina exhibió una mayor termoestabilidad, y una marcada diferencia en su capacidad hidrolítica; teniendo, sobre la leche bovina, un 70% más de actividad coagulante por mol que la quimosina ternero mamón, pero sólo el 20% de su actividad proteolítica general (Kappeler S.R. et al, 2006).

Estas diferencias, sin embargo, no afectan su performance en la fabricación de quesos. En efecto, a través de una experiencia en la que se compararon quesos Cheddar, elaborados con quimosina de camello recombinante, con los obtenidos mediante quimosina bovina, se pudo constatar que, si bien la composición global en ambos casos fue la misma, los primeros alcanzaron una menor proteólisis primaria, con gran diferencia en los perfiles peptídicos, pero con menores niveles de compuestos amargos y sabores indeseables en los primeros (Bansal N. et al. 2009).

c. *Coagulantes de origen vegetal*

De acuerdo a su origen, existe un tercer grupo de coagulantes, que corresponde a los que se obtienen a partir de la secreción y maceración de plantas tales como el cardo silvestre (*Cynara*

cardunculus), la higuera y el mamón, siendo la primera la de mayor aplicación. La principal característica que poseen estas enzimas, es su bajo poder coagulante y su elevada e inespecífica actividad proteolítica, que puede conducir a la formación de compuestos indeseables. Por ejemplo, en quesos tipo Manchego elaborados con coagulante vegetal obtenido de flores secas de cardo *Cynara cardunculus* L, se detectó una mayor intensidad de sabores ácidos y amargos, conjuntamente con un menor grado de dureza que los elaborados con cuajo bovino (Prados F. et al, 2006). No obstante, estudios más recientes, realizados sobre la performance del coagulante de *C cardunculus* en quesos semiduros de oveja, han demostrado que, en distintas concentraciones, esta enzima constituye una buena alternativa para acelerar la maduración de los mismos, sin detrimento de sus características organolépticas (Galán E. et al, 2008).

Esta problemática, sumada a la dificultad que presenta su obtención en grandes cantidades, ha hecho que estos coagulantes no posean una amplia difusión, y que su uso se vea circunscripto a acotadas regiones del mundo, para la elaboración de quesos artesanales tales como el Serra y el Serpa de Portugal (Zalazar C., 1994), la torta del Casar (queso español, con denominación de origen protegida, elaborado con enzima de *Cynara cardunculus*) (Rey E., 2013).

Por otra parte, también se ha informado acerca de otros compuestos de diverso origen botánico con capacidad de coagular la leche, como por ejemplo la resina de la higuera (*ficus caricalinnaeus*), utilizada como cuajo vegetal (leche de higo verde) en la elaboración del queso fresco en Ecuador, (Nolivos Carchi M.R., 2011). Análogamente, Mazorra–Manzano M.A. y colaboradores (2013) evaluaron las propiedades de tres extractos vegetales, Kiwi, Melón y Jengibre, y el efecto de la temperatura sobre la actividad de coagulación que presentan dichos extractos.

Actualmente, los coagulantes se comercializan como confecciones líquidas, en pasta o en polvo, según sus características y composición, y con distintos niveles de fuerza de acuerdo a su título (Tarchini M.E. et al, 1997; Zalazar C.A. et al, 1997).

Un aspecto que reviste gran importancia al momento de adoptar un determinado coagulante, es su pureza. En este sentido, sin embargo, resulta menester diferenciar qué se entiende por pureza enzimática y pureza química. La pureza enzimática se refiere a aquellos productos que no contienen enzimas adventicias (como impurezas procedentes de la fuente de

obtención o del proceso de preparación), que puedan dar lugar a reacciones secundarias indeseables que conduzcan a la generación de sabores y/o aromas impropios en el producto final.

Por el contrario, los productos de alta pureza química son aquellos en los que todas las sustancias que lo componen están químicamente identificadas. Sin embargo, en este caso, no se puede garantizar que sólo estén presentes las enzimas de interés tecnológico, y no existan aquellas con actividades secundarias inadecuadas.

Los cuajos y coagulantes pueden poseer distintos grados de pureza enzimática, habiéndose encontrado, en muchos de ellos, un gran número de actividades secundarias, responsables de la formación de sabores amargos o no deseados, como así también de conducir a defectos en la textura del queso. Asimismo, también es importante tener en cuenta el impacto que estos efectos indirectos tendrán frente a un ulterior uso del suero como ingrediente alimenticio.

1.3.2. Deshidratación del gel

Como ya se mencionó, tras la obtención del gel de caseína, debe eliminarse una parte de su fase acuosa. Esta operación se conoce como desuerado, y su magnitud depende del grado de humedad que se desee obtener en el producto final.

Normalmente, entre un 80–90% del desuerado, se produce en la tina de elaboración, a través de la sinéresis o contracción del coágulo, mientras que el resto tiene lugar durante el prensado.

En general, los geles lácteos son bastante estables mientras no se los altere, pero cuando se los corta o se los rompe, comienzan a desuerar (por contracción), siguiendo una cinética inicial de primer orden (Fox P.F. et al, 2015). Así, una vez que el gel (producido por la acción del coagulante) ha obtenido la consistencia adecuada, se realiza el lirado, el cual consiste en cortar la cuajada en cubos, cuyo tamaño varía según el tipo de queso y tiene el objetivo de eliminar suero del gel y retraer la cuajada. Físicamente este proceso se conoce como sinéresis.

La sinéresis se ve favorecida por:

✓ **Intensidad del corte:** Cuanto más fino sea el corte del coágulo, es decir, cuanto más pequeño sea el tamaño del grano de cuajada obtenido mediante el lirado de la misma, se tendrá una mayor superficie específica global, lo cual facilitará el drenaje del suero. De este modo, el tamaño final del grano de cuajada, quedará definido por el tipo de queso a elaborar y, por consiguiente, por su contenido de humedad requerido (Spreer E., 1998b; Dejmek P. and Walstra P., 2004).

Asimismo, es importante tener en cuenta que el momento del corte de la cuajada es fundamental para lograr un óptimo rendimiento (impedir pérdida de materia grasa y proteínas) y evitar defectos en el queso.

✓ **Descenso del pH:** una disminución en el valor del pH, produce un incremento en la permeabilidad de la matriz proteica, lo cual permite una mayor evacuación de la fase acuosa retenida en la cuajada, como puede observarse en la Figura 21 (Dejmek P. and Walstra P., 2004; Fox P.F, 2015).

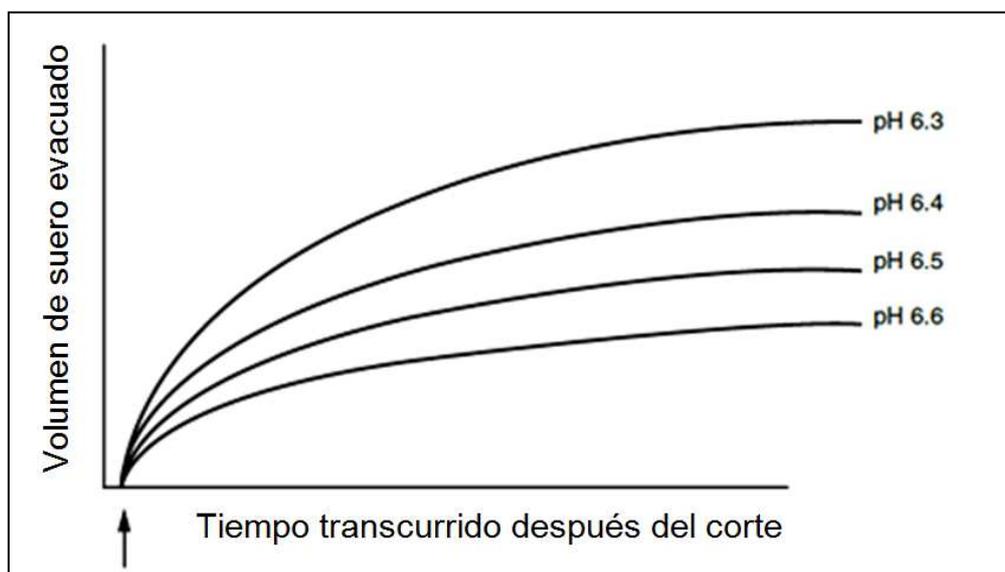


Figura 21: Efecto del pH en la velocidad y la extensión de la sinéresis en cuajadas enzimáticas, liradas.

✓ **Cocción de la cuajada:** en la fabricación de quesos de pasta cocida, o semicocida, se incluye un tratamiento térmico, también llamado cocción o secado. Para ello, una vez que la cuajada ha sido fraccionada hasta el tamaño adecuado, se la calienta hasta una temperatura que dependerá del tipo de queso. Así, por ejemplo, en los quesos semiduros o de pasta firme, la temperatura de cocción alcanza los 45°C mientras que en los quesos duros, ésta deberá elevarse hasta unos 52°C (Zalazar C. et al, 1999; Fox P.F., 2017a). Este calentamiento, promueve la contracción de la cuajada y, consecuentemente, la expulsión del suero, lo cual favorece el secado de la misma y la adquisición de consistencia. Asimismo, un incremento de la temperatura de cocción, también favorece los procesos difusionales y, por ende, el drenaje del suero retenido en los granos de cuajada, como muestra la Figura 22 (Dejmek P. and Walstra P., 2004; Fox P.F, 2015).

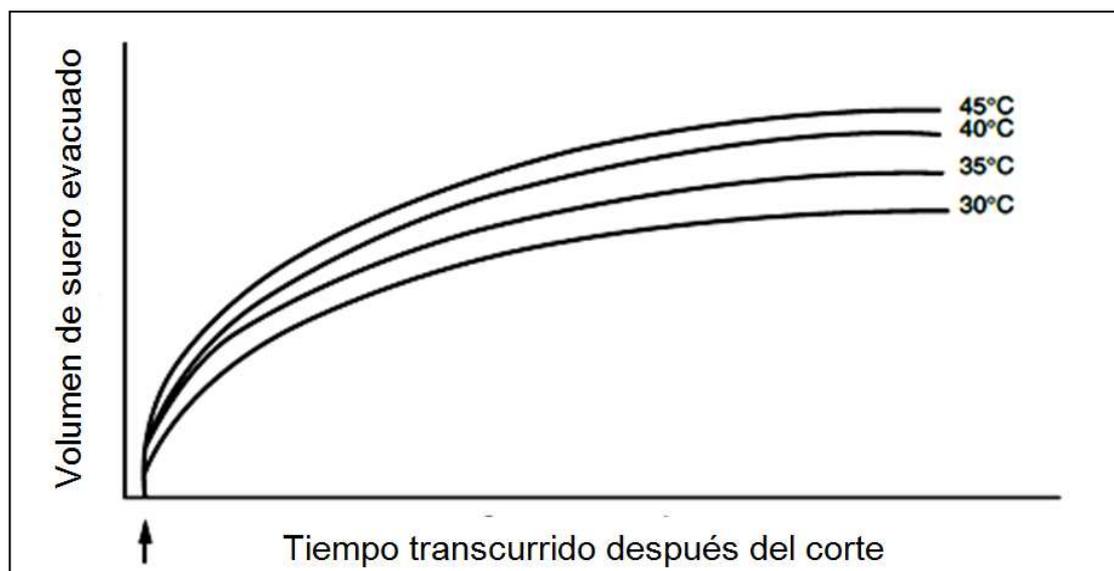


Figura 22: Influencia de la temperatura de cocción de los granos cuajada enzimática, sobre la velocidad y la extensión de la sinéresis, para distintos tipos de queso: Camembert (~30 °C), Gouda (~36 °C), Cheddar (~38 °C) y Emmental o Parmesano (52–55 °C).

En virtud de ello, es muy importante tener en cuenta que, el incremento de la temperatura durante la cocción, debe hacerse gradualmente, a los efectos de evitar un secado o endurecimiento superficial de los granos de cuajada, que impida la correcta eliminación de suero (Castañeda R. y col., 2005a).

Por otro lado, cabe destacar que el calentamiento de la cuajada, además de facilitar su deshidratación, permite ejercer un cierto control sobre la flora microbiana que prevalecerá durante la maduración del queso. En efecto, se ha demostrado que, a las temperaturas alcanzadas durante la cocción, se inhibe el crecimiento de microorganismos indeseables, y se estimula el desarrollo de especies termófilas productoras de ácido láctico tales como *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *helveticus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Spreer E., 1998b). A su vez, también se han observado diferencias en la resistencia térmica según la especie, y/o la cepa. Así, por ejemplo, entre los lactobacilos heterofermentativos, *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus rhamnosus* son más resistentes que *Lactobacillus plantarum*, pueden sobrevivir a la pasteurización HTST (Jordan N.K. and Cogan T.M., 1999), y soportan temperaturas de cocción de 50–55°C (durante, al menos, 1 hora) como las aplicadas en la fabricación de duros tales como Emmental y Grana (Chamba J.F. and Irlinger F., 2004).

Lógicamente, un control sobre la flora microbiana presente en la cuajada, permite regular el proceso de acidificación durante fabricación del queso, como así también los cambios bioquímicos asociados a la misma, que tendrán lugar en el transcurso de su maduración (Parente E. and Cogan T.M., 2004).

✓ ***Agitación durante la cocción de la cuajada:*** la agitación de las partículas de cuajada favorece la sinéresis, principalmente porque impide la sedimentación de las mismas. No obstante, existen otros factores derivados de la agitación, que se suman a esta acción. En efecto, la agitación produce una cierta presión externa sobre los granos de cuajada (que es más elevada cuanto mayor sea la turbulencia), la cual tiene una gran incidencia en la expulsión del suero (Van den Bijgaart H.J.C.M., 1988). Asimismo, la agitación da lugar a la colisión de las partículas de cuajada (entre sí o con el agitador), lo que, además de provocar su deformación, causa breves “golpes de presión”, todo lo cual, también contribuye a la salida del suero. Estas colisiones, que resultan más frecuentes cuanto más vigorosa sea la agitación, elevan la presión promedio, que ocasiona una mayor sinéresis. En la Figura 23, se puede apreciar el efecto global que ejerce la agitación sobre la sinéresis.

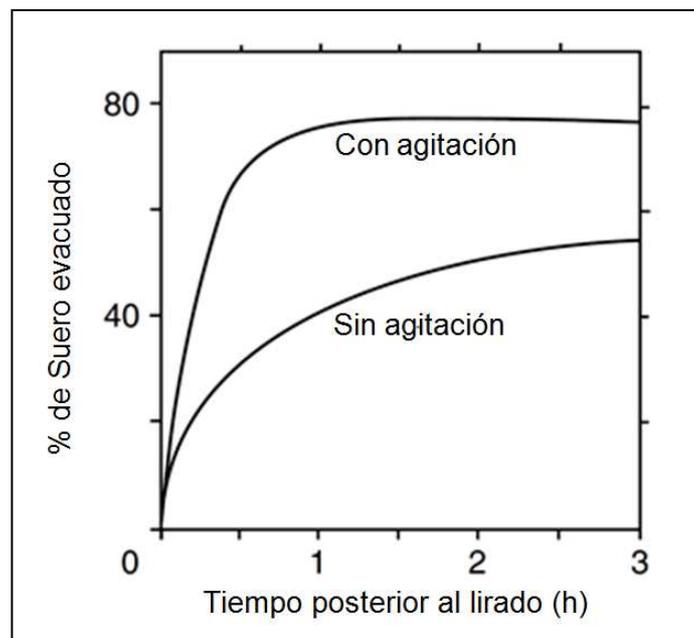


Figura 23: Volumen de suero evacuado (como % del volumen original de leche) por una cuajada mantenida en suero a 38°C, en función del tiempo transcurrido después de lirado, con y sin agitación – Fuente: Lawrence A., 1959.

✓ **Composición de la leche:** la presencia de materia grasa, retarda la sinéresis, mientras que el contenido de proteína la favorece hasta un cierto punto, por cuanto una alta concentración proteica da lugar a geles de mucha firmeza, que prácticamente no presentan sinéresis, como ocurre con leches ultrafiltradas.

✓ **Lavado de la cuajada:** En general, se ha informado que el lavado de la cuajada (sustitución de una parte del suero por igual cantidad de agua), puede favorecer la sinéresis. Sin embargo, esta operación puede coincidir con un incremento de la temperatura y/o velocidad de agitación, lo que, como ya se mencionó, tiene un efecto positivo sobre la sinéresis.

Básicamente, estos son los parámetros tecnológicos que puede controlar el quesero, para fijar el nivel correcto de humedad en la cuajada. Este es uno de los aspectos más importantes en la elaboración de un queso, por cuanto, el contenido acuoso, además de definir su tipo (blando, semiduro o duro), determina la velocidad y extensión del proceso de maduración. En efecto, un queso con mayor contenido de humedad, madurará más rápido, pero tendrá una menor estabilidad.

Por último, es importante señalar que, los geles obtenidos a partir de leches tratadas a altas temperaturas, no experimentan sinéresis, tal como ocurre en la elaboración de yogur, en la que, previo a la coagulación, la leche se somete a un intenso tratamiento térmico (por ejemplo, 10 min. a 90°C), a los efectos de evitar este fenómeno (Fox P.F. et al, 2015).

➤ Pre-prensado

El pre-prensado, es una acción mecánica, que consiste en unir los granos de cuajada, para formar un bloque compacto (Spreer E., 1998b). Esta operación se realiza con la cuajada en contacto con el suero y tiene como función ligar la masa, evitarla formación de agujeros mecánicos en el queso y facilitar su posterior moldeo. Por ejemplo, en quesos tipo Gouda, Edam o Emmental, en los que la presencia de ojos es una de sus características más salientes, mediante el pre-prensado se asegura la ausencia de aire en la masa y, en su lugar, se permite la presencia de cavidades microscópicas, con suero, en las que se puedan desarrollar los microorganismos específicos (principalmente, *Leuconostoc spp.* y *Propionibacterium freudenreichii spp. shermanii*), y producir el CO₂ que, en última instancia, es el que conduce a la formación de los redondos característicos (Bennett R.J. and Johnston K.A., 2004).

Por otro lado, al efectuar el pre-prensado bajo el suero, se impide el enfriamiento de la masa, lo que propicia un buen desarrollo del fermento y, por ende, una correcta velocidad de acidificación (Castañeda R. y col., 2005a).

➤ Moldeo

Una vez que se ha extraído el suero, la cuajada se reparte en moldes, con lo cual adquiere la forma requerida según el queso y, a su vez, se dispone para las siguientes etapas. Los moldes pueden ser de acero inoxidable o de plástico micro perforado. En el caso de los primeros, antes de moldearse, los quesos se envuelven en telas o lienzos, a los efectos de dar uniformidad a la superficie, lo que no resulta necesario cuando se emplean moldes plásticos.

➤ Prensado

El prensado tiene varios objetivos definidos:

- ✓ Dar forma al queso
- ✓ Favorece la formación de la corteza
- ✓ Liga fuertemente los granos de la cuajada
- ✓ Darle textura al queso
- ✓ Expulsión final del suero

La fuerza de presión no está estandarizada, y depende de la presión /Kg de queso, presión ejercida por el pistón de la prensa (generalmente indicada en base a la superficie del queso) y de la presión sobre la superficie del queso (Spreer E., 1998b).

Así, la velocidad de prensado y la presión aplicada se adaptan a cada tipo particular de queso. El prensado tiene que ser gradual al principio, ya que la aplicación de una presión inicial elevada comprime la capa superficial y puede encerrar humedad dentro del cuerpo del queso (Gösta Bylund, 2003d).

Un programa típico consiste en la aplicación gradual de una presión inicial de 2 Kg/cm² y elevarla a razón 0.5 kg/cm² cada hora, hasta que el queso llegue a pH 5.2 (Castañeda R. y col., 2005a). Por ejemplo, para un queso Gouda o Edam de tamaño medio (~10 kg), se comienza con una presión de 1 Bar (~1 Kg/cm²) por 20 min y se sigue por una de 2 Bar durante 40 min (Bennett R.J. and Johnston K.A., 2004). Para quesos de gran tamaño, como por ejemplo Emmental, cuyas hormas pueden pesar entre 30 y 100 Kg, se emplean presiones que van de 3 a 10 Bar, por 12 a 14 horas (Spreer E., 1998b).

Es importante tener en cuenta que, en los quesos que se someten a un pre-prensado, la presión inicial deberá ser igual o mayor a la empleada en dicha etapa.

En todos los casos, durante el prensado, es conveniente que, a intervalos de media hora o una hora, los quesos sean extraídos de la prensa, para ser “volteados”, es decir sacados de su molde y dados vuelta. Esta práctica tiene la finalidad de evitar que se peguen los lienzos (en caso de utilizar moldes de acero inoxidable) o facilitar el exudado de suero (en caso que los moldes sean plásticos micro perforados) (Castañeda R. y col., 2005a).

➤ Salado

El salado es una de las etapas más importantes dentro del proceso de fabricación de un queso, por cuanto la incorporación de cloruro de sodio a la masa, produce los siguientes efectos (Hardy J., 1990; Zamboni E.F., 1994; Spreer E., 1998b; Guinee T.P., 2004; Melilli C. et al, 2004; Cuffia F. et al, 2015; Fox P.F. et al 2017c):

- ✓ Contribuye a dar sabor al queso, a través de su interacción con las sustancias sápidas propias del mismo, lo que constituye su rol principal.
- ✓ Completa el desuerado, conocido como expurgue terciario (el primero fue en la tina y el segundo en la prensa), debido a un efecto osmótico.
- ✓ Favorece la formación de la corteza del queso, la cual ejerce una protección mecánica.
- ✓ Controla el desarrollo de microorganismos indeseables, dado que retrasa su desarrollo, según su halotolerancia.
- ✓ A través de su influencia sobre la actividad acuosa (es el factor de mayor incidencia), afecta el proceso de maduración del queso en su globalidad.
- ✓ En quesos los blandos, termoexitados, permite controlar el proceso de acidificación, dado que, al ser colocados en la salmuera (aproximadamente a unos 5°C), su temperatura desciende rápidamente, hasta ~10°C, lo cual retarda el desarrollo de los fermentos termófilos.

Así, cada queso, de acuerdo a sus características, tendrá un contenido de sal determinado, tal como se puede apreciar en la Tabla XI (Fox P.F. et al, 2017c).

Tabla XI: Composición aproximada de algunas variedades de queso (datos extraídos de distintas fuentes).

| Variedad | Humedad (g/100 g) | Proteína (g/100 g) | Materia Grasa (g/100 g) | NaCl (g/100 g) | Sal en la Humedad (g/100 g) |
|--|----------------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------|-----------------------------------|
| Brie | 48,6 | 19,2 | 26,9 | 1,8 | 3,7 |
| Camembert | 50,7 | 20,9 | 23,7 | 2,1 | 4,1 |
| Cheddar | 37,2 | 25,4 | 33,1 | 1,8 | 4,8 |
| Cheddar reducido en Materia Grasa | 43,0 | 33,4 | 17,0 | 1,9 | 4,4 |
| Cheshire | 38,5 | 24,2 | 31,9 | 1,8 | 4,7 |
| Queso Cottage | 79,1 | 13,8 | 3,9 | 1,0 | 1,3 |
| Danés azul | 43,0 | 17,4 | 37,3 | 3,3 | 7,7 |
| Edam | 43,8 | 26,0 | 25,4 | 2,0 | 4,6 |
| Emmental | 35,7 | 28,7 | 29,7 | 0,7 | 2,0 |
| Feta | 56,5 | 15,6 | 20,2 | 2,8 | 5,0 |
| Gouda | 40,1 | 24,0 | 31,0 | 2,1 | 3,6 |
| Gruyere | 33,6 | 27,3 | 34,5 | 1,2 | 5,2 |
| Mozzarella | 49,8 | 25,1 | 21,0 | 1,5 | 3,0 |
| Parmesano | 30,6 | 34,9 | 26,0 | 2,8 | 9,2 |
| Queso procesado | 49,1 | 18,3 | 23,3 | 3,4 | 6,9 |
| Ricotta | 73,2 | 11,3 | 10,3 | 0,4 | 0,5 |
| Roquefort | 41,3 | 19,7 | 32,9 | 3,8 | 9,2 |
| Stilton | 40,5 | 21,6 | 33,7 | 3,5 | 8,6 |
| Domiatí | 55,0 | 12,0 | 25,0 | 4,8 | 8,7 |

Si bien existen diversos métodos de salado, la adición de sal a la cuajada (principalmente empleado en la fabricación de queso Cheddar), salado en seco sobre la superficie del queso (para ciertos quesos artesanales), actualmente, el más difundido, dada su economía y practicidad, es mediante la inmersión en salmuera (Zamboni E.F., 1994; Spreer E., 1998b; Guinee T.P. and Sutherland B.J., 2011).

La absorción de sal en el queso durante el salado, depende de numerosos factores, que son los que determinan las condiciones bajo las que se realiza esta operación. Entre los más relevantes se pueden mencionar; concentración de la salmuera, composición del queso

(principalmente contenido de humedad y pH), tamaño y geometría de la horma, tiempo y temperatura de salado, etc (Zamboni E.F., 1994; Guinee T.P., 2004; Guinee T.P. and Sutherland B.J., 2011; Fox P.F. et al 2017c).

Con respecto a la concentración de la salmuera, visiblemente, cuanto más elevada sea, mayor será la cantidad de sal absorbida por el queso. Sin embargo, si el contenido de sal es exagerado, se producirán gradientes que propiciarán la formación de una corteza muy gruesa y dura (especialmente en quesos de pasta dura), que dificultará la incorporación de sal (Zamboni E.F., 1994; Melilli C., 2006).

En términos generales, las concentraciones más utilizadas para el salado son 20–22% (algunos autores indican hasta un 25%) de sal para los quesos duros y 16–18% para los quesos blandos, mientras que para algunos salados breves y excepcionales, se usan salmueras diluidas (12–14%) (Zamboni E.F., 1994; Castañeda R. y col., 2005b).

En cuanto a la temperatura, normalmente, oscila entre 5 y 15°C según el tipo de queso, siendo la temperatura ideal para quesos de pasta semidura, 8°C (Castañeda R. y col., 2005b).

1.3.3. Maduración del gel deshidratado

➤ Maduración

El proceso de maduración de un queso, es un complejísimo conjunto de fenómenos físicos, bioquímicos y biológicos que producen la transformación de la cuajada insípida, inodora y de pobre textura, en un producto final de características organolépticas muy preciadas. Así, a través de cambios que afectan tanto a la lactosa, como a las proteínas y las grasas, durante la maduración se desarrollan los atributos de aroma, sabor, olor, textura, que son propios de cada variedad (Zalazar C.A., 1994; Fox, P.F. et al, 2000; Bergamini C.V. et al, 2010, Fox P.F., 2017a).

El período de maduración podrá tener una duración tan breve como tres o cuatro días, o tan extensa como uno a dos años, según la variedad de queso que se trate.

La maduración de los quesos tiene lugar en cámaras especiales, en condiciones de temperatura y tiempo perfectamente controladas, dado un desajuste en las mismas, puede conducir a cambios indeseables, que impacten seriamente en la calidad del producto.

Esencialmente, durante el proceso de maduración ocurren tres fenómenos fundamentales:

- **Glicolisis.** Como ya se mencionó, la acción primaria de los cultivos lácticos es la acidificación del medio, a partir de la producción de ácido láctico, resultante de la metabolización de la lactosa. Esta acción, no sólo crea un ambiente desfavorable para el desarrollo de microorganismos indeseables, sino que, también facilita la acción proteolítica del coagulante residual. Según sea el carácter homo o hetero fermentativo, el ácido láctico podrá producirse como único compuesto, en el primer caso, o bien acompañado de otros tales como anhídrido carbónico, ácido acético y etanol, diacetilo, etc., en el segundo caso (Reinheimer J.A., 1994). Luego, durante la maduración, continúa el metabolismo de la lactosa residual y, posiblemente el citrato y lactato (Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Chamba J.F. and Irlinger F., 2004; Fox P.F. et al, 2017a).

La formación del ácido láctico no sólo protege al queso, sino que además promueve un cierto grado de descalcificación de la cuajada, lo cual inciden en la textura del queso (Sheehan J.J. and Guinee T. 2004; Lucey J.A. et al, 2005; O'Mahony J.A. et al, 2005; Bertola N. et al, 2011).

Sin embargo, la maduración de muchas variedades de queso no se distingue por esta acción del fermento primario, sino por la contribución que hacen otros microorganismos, conocidos como fermento secundario, cuyo metabolismo conduce a las características del producto final. Estos últimos, pueden surgir de la microflora nativa de la leche que sobrevivió a la pasteurización, o bien pueden ingresar como contaminantes post-proceso, como por ejemplo, algunos *Lactobacillus* mesófilos, especialmente *Lb. casei* y *Lb. paracasei*, y posiblemente *Pediococcus* y *Micrococcus*. Por ejemplo, *Propionibacterium* en quesos de tipo Suizo, *Penicillium roqueforti* en quesos Azules, *Penicillium camemberti* en quesos madurados superficialmente por hongos, como ser el Camembert y Brie, *Brevibacterium linens* y levaduras en otros quesos madurados superficialmente (Smear-ripened cheeses), *Lactococcus lactis* ssp. *lactis biovar diacetylactis* y *Leuconostoc* ssp. en quesos de tipo holandés, etc (Fox P.F. and McSweeney P.L.H., 1998; Chamba J.F. and Irlinger F., 2004; Fox P.F. et al, 2017a).

- **Proteólisis de la caseína.** La hidrólisis de la caseína es uno de los fenómenos más importantes y primarios de la maduración (Sousa M.J. et al., 2001). La caseína insípida e insoluble retenida en la cuajada se hidroliza enzimáticamente, dando origen a compuestos más simple, y solubilizándola en mayor o menor grado. A consecuencia de ello se producen importantes cambios en el sabor y aroma del queso, como así mismo en su aspecto y consistencia (Visser F.M.W. and de Groot–Mostert A.E.A., 1977; Visser S., 1993; Hynes E. et al, 1999). El proceso de proteólisis se inicia a través de la acción de la enzima coagulante que, como ya se mencionó, comienza con la ruptura del enlace peptídico Fen₁₀₅–Met₁₀₆, de la κ -caseína, tras lo que se libera ese segmento hidrofílico κ -CN (f106–169), denominado Glico–macropéptido (GMP) o Caseíno–macropéptido (CMP), lo cual conduce a la coagulación de la leche. Sin embargo, dependiendo del tipo de coagulante empleado y de cuánto de éste quede es retenido en la cuajada (entre 0 y 15%, según el caso) (Sousa M.J. et al, 2001), su acción hidrolítica sobre la caseína continuará, dependiendo de su estado y de las condiciones del medio (pH, actividad acuosa, temperatura, etc.). Si bien la proporción de compuestos de bajo peso molecular es relativamente baja (Gripón J.C. et al, 1975), los compuestos producidos por el coagulante, sirven como sustrato a las proteasas microbianas, ya que la mayoría de las bacterias lácticas, no actúan directamente sobre la caseína, por no poseer enzimas apropiadas (Zalazar C.A., 1994; Zalazar C.A. et al, 1994; Candiotti M.C. et al, 2009).

Paralelamente, a la acción proteolítica desarrollada por las bacterias del fermento, se suma la que producen otros microorganismos de distinto origen, como por ejemplo, los agregados como fermento secundario, los pertenecientes a la flora natural de la leche, bacterias lácticas no fermento (NSLAB), los provenientes del medio ambiente, etc (Oliszewski R. et al, 2013; Wolf I.V. et al, 2011; Fox P.F. et al, 2017a).

- **Lipólisis de la materia grasa.** La hidrólisis de los triglicéridos en glicerina y ácidos grasos, es llevada a cabo por las enzimas llamadas lipasas. Subsecuentemente, los ácidos grasos libres, por efecto de otras enzimas, son parcialmente transformados en compuestos tales como metilcetonas, ésteres, alcoholes y lactonas. Estos cambios tienen una importancia decisiva en la determinación de las características finales del queso. En efecto, los ácidos grasos de cadenas cortas (butírico, caprónico, caprílico, cáprico) son muy influyentes en el sabor y aroma de los quesos, al igual que las metilcetonas provenientes de la degradación de ácidos grasos (Wolf I.V. et al, 2009). Así, las distintas variedades se diferencian sensiblemente de acuerdo a la extensión de la lipólisis que ha sufrido la materia grasa (Zalazar C.A., 1999; Wolf I.V. et al, 2011).

Las lipasas que causan la descomposición enzimática de la materia grasa pueden tener distintos orígenes: la lipasa natural de la leche (activa sólo en quesos elaborados con leche cruda o sub-pasteurizada), las presentes en ciertos coagulantes (como el cuajo de cabrito en pasta) y las producidas por bacterias y hongos (Broome M.C., Powell I.B. and Limsowtin G.K.Y., 2011).

En el caso particular de los quesos elaborados con leche caprina, teniendo en cuenta su muy favorable composición en ácidos grasos de cadena corta (15–18% del total de ácidos grasos), a través de los procesos lipolíticos, según la variedad, se podrán desarrollar características de aroma y sabor propias y sumamente apreciadas, que los distinguirán ventajosamente frente a los de leche bovina (Park Y., 2005).

2. LA CONGELACIÓN COMO ALTERNATIVA A LA DESESTACIONALIZACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE QUESOS

Un abastecimiento continuo de quesos elaborados con leche de cabra, no sólo reviste un gran interés desde el punto de vista de su comercialización, sino que, habida cuenta de la estacionalidad de dicha materia prima, también representa una importante mejora en la sustentabilidad y rentabilidad de esta industria lechera (Park Y., 2005). Una alternativa muy interesante para alcanzar esta premisa, es la implementación de un almacenamiento bajo condiciones de congelación de la leche y/o cuajada caprina.

La congelación es la operación unitaria en que la temperatura de un alimento se reduce por debajo de su punto de congelación, y una proporción del agua sufre un cambio de estado para formar cristales de hielo. La inmovilización del agua en forma de hielo y la concentración consecuente de los solutos lleva a la disminución de la actividad del agua (Heldman D.R. and Hartel R.W., 1998). El efecto conservante de la congelación viene dado por la combinación de baja temperatura (disminución de la reactividad química y del metabolismo microbiano) y reducción de la actividad del agua (Hui Y.H. et al, 2004).

Actualmente, existen ciertos establecimientos que emplean el congelamiento como un medio de prolongar la vida útil de la leche caprina, y así garantizar su disponibilidad durante todo el año (Grille L., 2013). Sin embargo, para poder avalar la conveniencia de esta metodología, es necesario estudiar sus efectos sobre las cualidades fisicoquímicas y sensoriales del material a conservar.

En relación a este punto, si bien algunos autores consideran que, si el proceso de congelación y mantenimiento son correctos, los cambios en la calidad nutricional y sensorial son muy leves (Sendra Nadal E., 1995), otros, por el contrario, han encontrado que este método puede tener efectos adversos sobre los distintos constituyentes de la leche, que impactan directamente sobre su calidad (Grille L., 2013). En este sentido, uno de los principales inconvenientes que puede acarrear el congelamiento, es el de propiciar la oxidación de la materia grasa, lo cual, además de ocasionar una disminución en dicho componente, incrementa el contenido de ácidos grasos libres y, por lo tanto, la acidez de la leche. Este suceso, debido básicamente a procesos enzimáticos (en especial si la lipasa natural no fue inactivada previamente por un tratamiento térmico), se ve favorecido por la destrucción de los glóbulos grasos, provocada por los cristales que se forman durante la congelación (Grille L., 2013).

Cabe señalar que este es un aspecto de mucha importancia, por cuanto, la oxidación de lípidos constituye una de las causas principales del deterioro de grasas y aceites, lo cual reduce sensiblemente la calidad del producto.

Análogamente, Grille L. et al (2013) también se han informado que la congelación puede alterar la estructura proteica en la leche y, consecuentemente, su comportamiento en el queso.

No obstante, en base a experiencias llevadas a cabo en el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN), se pudo comprobar que, tras un cierto período de congelamiento, la leche de cabra mantuvo intacta su aptitud casearia (Oliszewski R. et al, 2013).

Por otro lado, en lo atinente al efecto del congelamiento sobre la actividad proteolítica, también se han presentado resultados encontrados, dado que, si bien algunos investigadores afirman que a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ la proteólisis del queso no se detiene, otros alegan que a esa temperatura, ésta resulta despreciable (Sendra Nadal E., 1995).

En cualquier caso, los resultados dependen de tipo de queso estudiado (Sendra Nadal E., 1995).

En lo que respecta al efecto del frío sobre la actividad microbiana, también existen discrepancias en información difundida. En efecto, mientras que algunos autores consideran que el congelamiento como método de conservación no afecta los microorganismos, otros en cambio, sostienen que este tratamiento puede tener efectos negativos sobre las células bacterianas ya que se altera la pared celular de las bacterias perjudicando su capacidad de multiplicación (Grille L., 2013).

En este sentido, Grille L. et al (2013) concluyen que es más adecuado pasteurizar la leche de cabra previo a la congelación, dado que así se obtiene un producto con una menor carga bacteriana, disminuyendo el riesgo de que se produzcan alteraciones en la composición y propiedades físico-químicas causadas por microorganismos.

En lo concerniente a la leche de cabra, se ha podido demostrar que, previamente pasteurizada, una congelación, por un período de hasta 90 días, no altera significativamente sus características microbiológicas (Grille L., 2013).

En otro orden de cosas, investigaciones realizadas por Park Y. et al (2004) acerca de los efectos del almacenamiento en condiciones de congelación, sobre quesos blandos de leche de

cabra, revelan que éste no tendría efectos perjudiciales sobre la calidad microbiológica del queso blando de leche de cabra. En la misma investigación, Park pudo determinar que los quesos no presentaron niveles detectables de bacterias patógenas tales como *E. coli*, coliformes y *S. aureus*, por lo que no existiera así preocupaciones de inocuidad alimentaria.

Análogamente, a través de estudios semejantes, otros investigadores, demostraron que, el congelamiento de quesos blandos elaborados con leche de cabra, durante un período de al menos tres meses, tuvo un mínimo impacto sobre sus características reológicas y la actividad proteolítica, lo cual se traduce en una mínima pérdida de textura (Van Hekken D.L. et al, 2005), o bien de su calidad sensorial (Park Y. et al, 2005).

Indudablemente, estas conclusiones representan un valioso aporte, por cuanto validan el recurso de conservar este tipo de productos bajo congelación, lo que permite su posterior comercialización, durante la temporada baja, sin que se produzcan serios deterioros microbianos o alteraciones de sus características organolépticas.

A partir de lo expuesto, mediante el presente estudio, se propone obtener resultados que avalen el método de conservación por medio de la congelación, con el objetivo de superar los inconvenientes derivados de la estacionalidad de la leche de cabra y poder contar con un derivado lácteo como el queso en la totalidad del año, prestando mayor atención a la calidad composicional, sensorial y microbiológica del producto obtenido.

ENSAYOS, RESULTADOS y DISCUSIÓN

IV- ENSAYOS, RESULTADOS y DISCUSIÓN

1. MATERIALES y MÉTODOS

1.1. Preparación de la leche para las distintas experiencias

Para realizar este estudio, se partió de 210 litros de leche procedentes del establecimiento La Majadita, ubicado en San Pedro–Gutemberg, Departamento de Río Seco, al norte de la provincia de Córdoba, a 230 km de la Capital. Dicho establecimiento, recibe leche de un grupo de productores que poseen majas de cabras criollas.



Figura 24: Mezclado y homogeneización de leche cruda.

La totalidad de la leche se volcó en una tina perteneciente a la empresa, Figura 24, y luego de homogeneizar su composición mediante un mezclado por agitación, se la dividió en lotes para realizar las diferentes experiencias. Estos lotes fueron identificados de la siguiente manera:

Lote Q1: Consistente en 30 litros de leche que, sin ningún tratamiento, se destinaron a elaborar el queso testigo, identificado como **Lote Q1–T**, cuya maduración se extendió hasta el momento de su muestreo.

Lote Q2: Constituido por 60 litros de leche, al cual se dividió en dos (2) fracciones de 30 litros cada una. Ambas fracciones de leche cruda fueron congeladas y mantenidas; una durante 4 meses y la otra por 7 meses. Cumplido el tiempo se descongelaron y se elaboraron quesos a los que se identificó como: **Lote Q2–4m** y **Lote Q2–7m**, respectivamente.

Lote Q3: Formado por 60 litros de leche que, sin ningún tratamiento, se destinaron a elaboración de cuajada. Para ello, se adoptó la tecnología de elaboración de quesos, que se describe en el esquema presentado en la Figura 25, pero llevada a cabo sólo hasta la etapa de cocción y secado. La cuajada obtenida en este punto, se dividió en dos fracciones idénticas, las que fueron enfriadas en cámara a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, a partir de lo cual se las congeló en freezer horizontal, tipo cajón, a -18°C . Una cuajada se mantuvo congelada durante 4 meses, y la otra 7 meses. Finalizado el tiempo de congelación, establecido para cada una, se la descongeló y se completó la elaboración hasta obtener los respectivos quesos, que fueron identificados como: **Lote Q3–4m** y **Lote Q3–7m**.

Lote Q4: Compuesto por 60 litros de leche que, sin ningún tratamiento, se destinaron a elaboración de masa casearia (queso sin madurar). Para ello, también se aplicó el mismo protocolo de elaboración que con el lote anterior pero, para este caso, en forma completa. Para realizar el moldeo se emplearon dos moldes de queso barra. Luego del prensado, salado y oreo, cada barra fue fraccionada en 8 partes, que fueron envasadas y congeladas a -18°C , en el mismo freezer que las anteriores. Transcurridos 4 meses, se descongeló un grupo de quesos, y se envió a la cámara de maduración, y a los 7 meses, se procedió de igual modo con el otro grupo. Los quesos así obtenidos fueron identificados como **Lote Q4–4m** y **Lote Q4–7m**.

Todos los lotes de leche cruda se congelaron en el establecimiento La Majadita, San Pedro Gutemeberg, Córdoba, y, posteriormente, se trasladaron Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), Centro de Lácteos, sede Rafaela (Santa Fe), para realizar todas las elaboraciones. La conservación de las cuajadas, las masas casearias (quesos sin madurar) y la maduración en cámara de los quesos fue realizada en INTI Lácteos. Esto permitió un mejor control de los parámetros y facilitó los muestreos en las distintas etapas del desarrollo del trabajo.

1.2. Esquema general de la elaboración de quesos

La tecnología empleada para la elaboración de cuajadas y masas casearias destinadas a la congelación, como así también para los quesos testigo, se describe en la Figura 25.

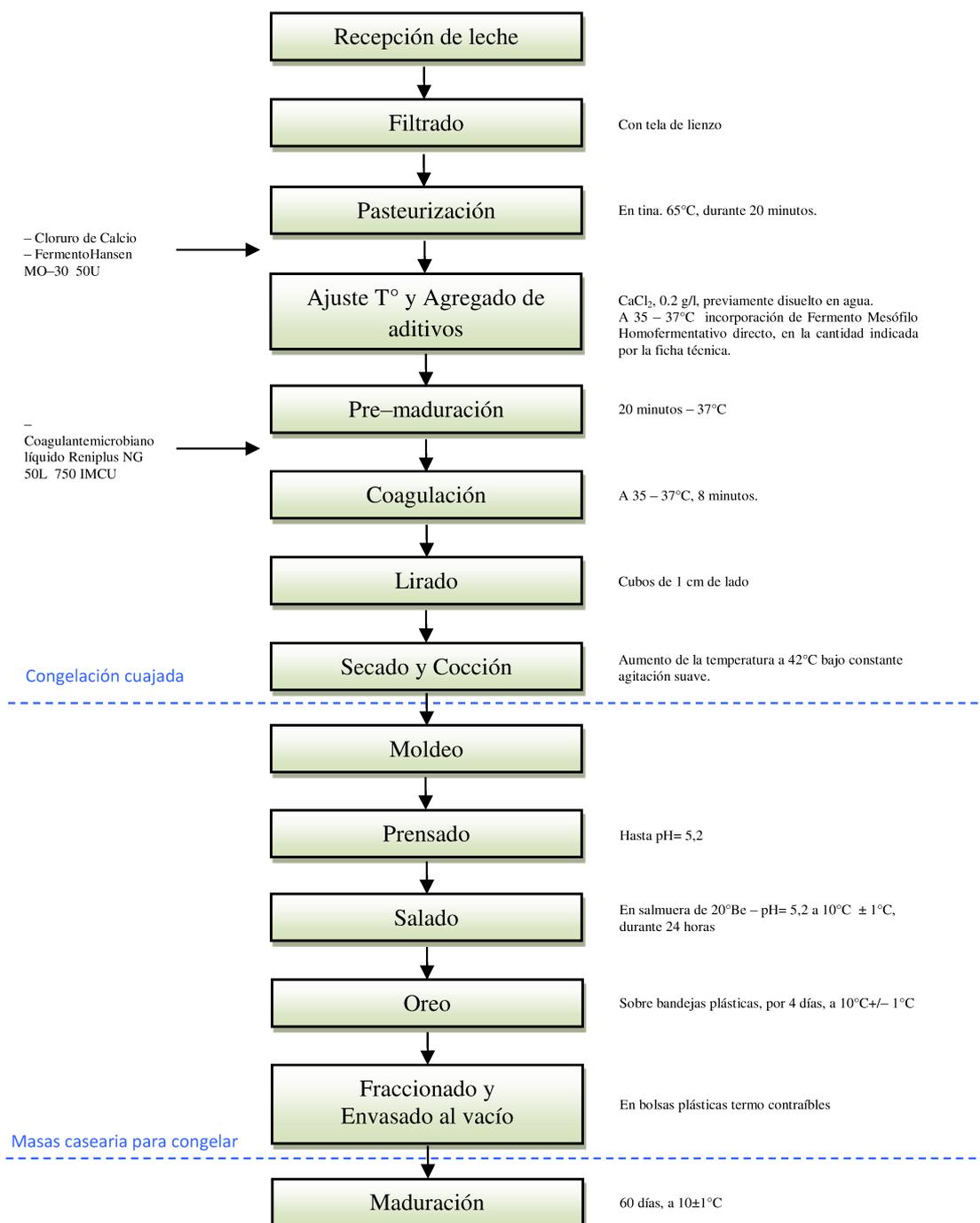


Figura 25: Esquema de la tecnología empleada para la elaboración de cuajadas destinadas a la congelación y quesos.

Como se puede ver en la Figura 25, la pasteurización de la leche se realizó en tina a 65°C, durante 20 minutos. Luego de la pasteurización, la leche se enfrió a 35–37°C, se agregó 0.2 g/l de CaCl₂ (previamente disuelto en agua), un fermento mesófilo homofermentativo directo (Hansen MO–3050U) en la cantidad indicada en la ficha técnica. Pasados unos 20 minutos se adicionó un coagulante microbiano; Reniplus NG 50L 750 IMCU (enzima termolábil, obtenida por fermentación de *Mucor miehei*, García V. et al, 2011), en la proporción necesaria para lograr una coagulación en 8 ± 1 minuto. Cuando el coágulo adquirió la consistencia adecuada, se lo cortó progresivamente, mediante una lira (lirado) tratando de obtener cubos de 1 cm de arista. Transcurridos unos 5–10 min, la mezcla cuajada-suero se comenzó a agitar muy suavemente, y calentando lentamente de manera de elevar su temperatura hasta 42°C.

De este modo, mediante el efecto combinado de la temperatura (cocción), acidificación por acción del fermento y la acción mecánica (agitación), los granos de cuajada son llevados, por sinéresis, al nivel de humedad preciso (secado). Alcanzado este punto, se suspendió la agitación, y se extrajo el suero remanente.

En las experiencias en que se elaboró cuajada, en esta etapa, se finalizó la elaboración. Una vez recuperada la cuajada, se la envasó y posteriormente se sometió al congelamiento.

Cuando el propósito fue la obtención de masas casearias (queso sin madurar), la cuajada se colocó en moldes de queso barra, donde se la prensó durante 4 horas o bien hasta que el pH descendió hasta ~5,2. Terminado el prensado, la masa fue extraída del molde, y salada en salmuera con una densidad igual a 20°Baumé (~21% de sal) y a una temperatura de 10±1°C, por un día. Luego se colocaron en bandejas plásticas y llevadas a una cámara fría, a 10±1°C y 80% de humedad relativa, donde permanecieron durante 4 días para su oreo. Cumplida esta etapa, cada horma, con la forma de un queso barra, se fraccionó en 8 porciones, las que fueron envasadas individualmente en bolsas plásticas termocontraíbles.

En estas condiciones, los quesos pueden ser llevados a maduración (como lo fue en el caso de los quesos testigos), o bien a congelación para su conservación. El proceso de maduración se realizó luego de la congelación en una cámara a 10±1°C, durante 60 días.

1.2.1. Elaboración de queso testigo

Los quesos testigo se elaboraron con 30 litros de leche de cabra según el procedimiento descrito en Figura 25, y se los maduró en cámara a 10°C por 60 días.

1.2.2. Elaboración de quesos a partir de leche cruda congelada

Se realizaron dos elaboraciones, en las que se emplearon leches conservadas a -18°C, durante 4 y 7 meses. Para su descongelamiento, la leche se colocó en cámara a 10±1°C, durante 24 horas y luego se procedió a la elaboración de los quesos según el procedimiento descrito en Figura 25. Los quesos se maduraron en cámara a 10 °C por 60 días.

1.2.3. Elaboración de quesos a partir de cuajadas congeladas

Como se indicó precedentemente, estas cuajadas se elaboraron siguiendo el procedimiento descrito en la Figura 25, hasta la etapa de cocción y secado, tras lo cual fueron envasadas y congeladas a -18 °C y mantenidas durante 4 y 7 meses. Para continuar con el proceso de elaboración de queso, se descongelaron llevándose a una cámara a 10°C por 48 horas. Una vez descongeladas, se las moldeó, prensó, saló y envasó. Al igual que los anteriores, estos quesos se maduraron en cámara a 10°C, por 60 días

1.2.4. Elaboración de quesos a partir de masas casearias sin madurar congeladas

Las masas casearias (queso sin madurar) se elaboraron según el procedimiento descrito en Figura 25. Cumplido el tiempo de conservación a -18°C (4 y 7 meses) los quesos se llevaron a una cámara a 10 °C por 48 horas y luego se maduraron en cámara a 10 °C por 60 días.

1.3. Envasado

En todos los casos, para el envasado, tanto de quesos testigos, como cuajadas o masas casearias para congelar, se realizó utilizando bolsas plásticas termocontraíbles, con alta resistencia mecánica, en un equipo Rapi-vac Minimax 430L.

1.4. Toma de muestras

Para el presente trabajo, se tomaron y analizaron las siguientes muestras:

1.4.1– Leche cruda extraída de la tina donde se homogeneizó el total de volumen de leche.

1.4.2– Cuajada para congelar

1.4.3– Masas casearias sin madurar para congelar

1.4.4– Quesos testigos

1.4.5– Leche descongelada con 4 y 7 meses de conservación a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.4.6– Cuajadas descongeladas con 4 y 7 meses de conservación a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.4.7– Masas casearias descongeladas con 4 y 7 meses de conservación a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.4.8– Quesos elaborados con cuajadas congeladas durante 4 y 7 meses.

1.4.9– Quesos elaborados con masas casearias congeladas durante 4 y 7 meses.

1.5. Determinaciones microbiológicas

1.5.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales: Se realizó a través del Método horizontal (muy difundido en el análisis de alimentos), de acuerdo a la Norma ISO (International Organization for Standardization) 4833-1:2013 Part 1: Recuento de colonias a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por la técnica de vertido en placa, Agar Plate Count, utilizando un medio comercial deshidratado (Merck, Alemania), incubando $72\pm 3\text{ h}$ a $30\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.5.2. Recuento de gérmenes coliformes totales y *Escherichia coli*: Se adoptó el Método Oficial de la AOAC (Association of Official Agricultural Chemists) 991.14:2005, de film seco rehidratable – placa PETRIFILM 3M, incubando durante 48 ± 2 h. a $35 \pm 1^\circ\text{C}$.

1.6. Ensayos fisicoquímicos

Los parámetros que se midieron fueron los siguientes:

Determinaciones en leche

1.6.1. Acidez titulable en leche: Se determinó por valoración de un dado volumen de leche, expresándose el resultado en términos de ácido láctico, en base al concepto de Grado Dornic ($^\circ\text{D}$), cuya definición, establece que 1°D corresponde a 1 mg de ácido láctico / 10 ml de muestra (0,1 g/L), según Norma AOAC 947.05. Para ello, se empleó una solución normalizada de hidróxido de sodio N/9. El gasto (en ml) necesario para neutralizar los grupos ácidos existentes en 10 ml de muestra se deben multiplicar por 10, lo cual representa su acidez en $^\circ\text{D}$.

1.6.2. pH: Se evaluó por medición potenciométrica, empleando un pH-metro digital, marca HANNA, modelo HI 98185, provisto por electrodo de vidrio y calomel, previamente calibrado a pH 7 y 4, mediante los buffer correspondientes a dichos valores.

1.6.3. Materia grasa en leche: Se empleó el Método gravimétrico, según ISO 1211|IDF 1: 2010 Leche. Determinación del contenido de materia grasa (Método de referencia, Roese Gottlieb), que básicamente consiste en hacer una extracción de la materia grasa con solventes (se le adiciona a una muestra de 10 g, solución de hidróxido amonio, etanol, éter etílico y éter de petróleo) y posterior evaporación de los solventes, primero en platina y luego en estufa. Seguidamente se pesa, se vuelve a la estufa, y se repite la operación hasta obtener una pesada constante

1.6.4. Proteínas totales: Se adoptó el Método gravimétrico, según ISO 8968–2|IDF20–2: 2001 Leche. Determinación del contenido de nitrógeno. Parte 2: Método digestión en bloque (Método Macro), en el cual se lleva a cabo una digestión, destilación y posterior titulación. Para ello, se colocan 5g de muestra en un equipo de digestión en bloque, con una mezcla de ácido sulfúrico y sulfato de potasio (cuya finalidad es aumentar el punto de ebullición del ácido sulfúrico y proporcionar un medio fuertemente oxidante), usando sulfato de cobre como un

catalizador. A través de este procedimiento, se logra de convertir el nitrógeno orgánico presente en la muestra en sulfato de amonio. Una vez que el digerido obtenido se ha enfriado, se le adiciona un exceso de hidróxido de sodio para liberar amoníaco. A continuación, se destilan los vapores de amoníaco, usando una unidad de destilación manual o semiautomática, con lo cual se los pasa desde el digerido a un colector que contiene un exceso de solución de ácido bórico, donde finalmente titulan con una solución valorada de ácido clorhídrico. El contenido de nitrógeno es calculado en base a la cantidad producida de amonio.

1.6.5. Sólidos Totales en leche: Se evaluaron de acuerdo al Método gravimétrico, según ISO 6731|IDF 21:2010 Leche, Crema y Leche Evaporada. Determinación del contenido de sólidos totales (Método de referencia), haciendo una evaporación seguida de un secado en estufa a una temperatura de $102\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

1.6.6. Cenizas en leche: Se valoraron por evaporación y calcinación en mufla a 550 °C , de acuerdo al Método gravimétrico, indicado por AOAC 945.46 Ed. 19 (2012) Cenizas en Leche.

Determinaciones en queso

1.6.7. Materia Grasa en quesos:

Se emplearon dos procedimientos:

1.6.7 a. Método gravimétrico, según ISO 1735|IDF 5:2004 (Método de Referencia). Queso y Productos de Queso Procesado. Determinación del contenido de materia grasa (Método de referencia). Básicamente, consiste en digerir de la muestra con ácido clorhídrico, adicionar etanol, hacer una extracción de la solución ácida-etanólica con éter etílico y éter de petróleo y, eliminar los solventes por destilación o evaporación y, finalmente, determinar la masa de las sustancias extraídas. Este procedimiento, generalmente, se conoce como el principio de Schmid-Bondzynski-Ratzlaf, SBR).

1.6.7 b. Método ácido butirométrico (Método Van Gulik), según ISO 3433|IDF 222:2008 Queso-Determinación del contenido de materia grasa. Es una adaptación del Método de Gerber, basada en la extracción de la materia grasa del producto (en medio ácido y en caliente) en un butirómetro, separación de las fases por centrifugación y lectura directa.

1.6.8. Sólidos totales en queso y Humedad: Mediante el Método gravimétrico, según ISO 5534|IDF 4:2004 Queso y Queso Procesado (Método de referencia), el cual consiste en determinar el contenido de sólidos totales, realizando un secado de la muestra en estufa a 102°C ± 2°C.

1.6.9. Cenizas en queso: Al igual que en leche, se valora por evaporación y calcinación de la muestra en mufla a 550°C. Aplicando el Método gravimétrico de AOAC OMA 935.42 (2005) Cenizas en Queso.

1.6.10. Nitrógeno Total: Se evaluó de acuerdo la técnica ISO 8968-1 (IDF20-1: 2014) - Leche y productos lácteos - Determinación del contenido de nitrógeno. Parte 1: Principio de Kjeldahl y cálculo de proteína cruda. La metodología consta de un proceso de digestión, destilación en bloque y titulación final. El producto del valor obtenido para nitrógeno total, por la constante de lácteos, 6.38, permite conocer el contenido de Proteínas Totales.

1.6. 11. Nitrógeno soluble a pH 4,4 en quesos: Esta determinación, se llevó a cabo mediante el la técnica ISO 27871:2011 (IDF 224:2011) - Cheese and processed cheese -- Determination of the nitrogenous fractions. Para ello, a una muestra de 20 g de quesos, se adicionaron 50 ml de citrato de sodio 0,5M, más 11 ml de ácido clorhídrico. Luego de macerar, el pH de la mezcla se ajustó a 4,4, y se volumen se llevó a 100 ml con agua destilada. Finalmente, se filtró para recuperar la fracción soluble, sobre la cual se sometió a una digestión para determinar su contenido de nitrógeno.

1.6.12. Grado de maduración (GM): Se evaluó en base a la relación entre el contenido de nitrógeno soluble a pH 4,4 y el de nitrógeno total (Hynes E. et al, 2001).

1.7. Determinaciones cromatográficas

1.7.1–Perfil de ácidos grasos: Se investigaron Grasas Saturadas y Grasas Trans, por cromatografía gaseosa, según ISO 15884 | IDF 182 e ISO 15885 | IDF 184.

1.7.2–Ácidos Grasos Libres Volátiles: Se determinaron haciendo una destilación por arrastre con vapor de los ácidos grasos y posterior cuantificación de los ácidos grasos libres volátiles por cromatografía gaseosa, según Técnica S. Kuzdel Savoi, 1971, modificada por INTI Centro de Investigaciones Tecnológicas de la Industria Láctea.

1.8. Evaluación sensorial

1.8.1-Análisis Descriptivo Cuantitativo: Para este estudio se seleccionaron 7 personas del panel entrenado según las Normas IRAM 20001; 20002; 20004; 20005 y 20006. La realización de este estudio, estuvo basada en los siguientes trabajos:

- ✓ La técnica “Análisis Descriptivo Cuantitativo (ADC)” siguiendo los lineamientos de las Normas IRAM 20012 y 20013: Perfil de Flavor y Perfil de textura respectivamente.
- ✓ La “Guía para la Evaluación olfato–gustativa de los quesos de pasta dura y semidura”. INRA, 1996.
- ✓ Guide D’Evaluation Sensorielle de la Texture des fromages a pâtedureou semidure, INRA (Lavanchy P. et al, 1994).
- ✓ Metodología para la caracterización sensorial de quesos argentinos (Montero H. y col., 2005).

Los atributos sensoriales evaluados fueron intensidad del olor, intensidad de aroma típico, dulce, salado, ácido, amargo picante, astringente, ardiente, refrescante, acre, metálico, gusto residual, persistencia, elasticidad, firmeza, friabilidad, adherencia, identificación de cristales, solubilidad, humedad. Dichas características se midieron en una escala de 1 (mínimo estímulo al atributo) a 7 (máximo estímulo al atributo).

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1. Leche de cabra cruda

En la Tabla XII se presenta la composición global media y el contenido microbiano total correspondiente a los 210 litros de leche cruda de cabra, empleada para todas las experiencias.

Tabla XII: Composición leche de cabra cruda.

| Producto | Acidez (°D) | pH | Materia Grasa (%P/P) | Proteínas totales (%P/P) | Sólidos totales (%P/P) | Cenizas (%P/P) | Gérmens totales (UFC/ml) |
|----------------------|-------------|------|----------------------|--------------------------|------------------------|----------------|--------------------------|
| Leche de cabra cruda | 21,3 | 6,39 | 6,08 | 4,52 | 15,79 | 0,93 | 5,2.10 ⁷ |

Se pudo comprobar que los valores obtenidos para la leche de partida, se encuentran dentro del rango de los informados en la bibliografía (Sanz Sampelayo M. R. et al, 2003; Amigo L. and Fontecha J., 2011), exhibiendo una muy conveniente mayor riqueza tanto en su contenido proteico, como grasa. De este modo, la composición de la leche de cabra se enmarca dentro de los valores establecidos por el Código Alimentario Argentino (Tabla III) que fija un mínimo de 3% de materia grasa, 2,8% de proteínas totales, 9% de sólidos no grasos, y 14–22°D de acidez. Esto permite afirmar que la leche empleada reúne la composición aceptable para un procesamiento técnicamente viable y que se encuentra dentro de los rangos normales de calidad (CAA, 2014).

En lo que respecta al análisis de la materia grasa, los valores correspondientes al perfil de ácidos grasos obtenidos para la leche en estudio (Tabla XIII), se encontraron en el rango de los registrados en la bibliografía, con medias muy próximas a las de estos últimos (Tabla VI).

Tabla XIII: Perfil de ácidos grasos en leche de cabra cruda expresado en %P/P.

| Ácido Graso | Producto |
|-------------------|----------------------|
| | Leche de cabra cruda |
| C4:0 | 2,07 |
| C6:0 | 2,33 |
| C8:0 | 2,75 |
| C10:0 | 9,85 |
| C10:1 | 0,25 |
| C12:0 | 4,09 |
| C12:1 | 0,10 |
| C14:0 | 8,95 |
| C14:1 + iso C15:0 | 0,59 |
| C15:0 | 1,00 |
| C15:1 | 0,21 |
| C16:0 | 28,85 |
| C16:1 | 1,03 |
| C17:0 | 0,36 |
| C17:1 | 0,27 |
| C18:0 | 11,25 |
| C18:1 | 22,34 |
| C18:2 | 1,43 |
| C18:3 | 1,14 |
| CLA | 1,00 |

2.2. Elaboración de Queso Testigo (Q1–T)

Las determinaciones microbiológicas de la leche pasteurizada a 65°C por 20 minutos indicaron que contenía 1,2.10 UFC/ml de gérmenes coliformes totales y menos de 1 UFC/ml de *Escherichia coli*.

En la Figura 26, se puede apreciar la apariencia de los quesos testigo Q1–T envasados al vacío, al ingreso a la cámara de maduración, cuya composición global, luego de ser mantenidos a 10°C durante 60 días, se muestra en la Tabla XIV.

Tabla XIV: Composición global de los quesos Testigo Q1–T, madurados durante 60 días a 10°C.

| Producto | Proteínas totales (%P/P) | Materia Grasa (%P/P) | Nitrógeno soluble (%P/P) | Sólidos totales (%P/P) | Humedad (%P/P) | Grado de Maduración |
|------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|----------------|---------------------|
| Queso Q1-T | 22,40 | 31,17 | 1,04 | 58,58 | 41,42 | 29,69 |



Figura 26: Quesos testigos Q1–T envasados al vacío al ingreso a la cámara de maduración.

Por otra lado, los recuentos microbiológicos indicaron la presencia de $8,2 \cdot 10^6$ UFC/g de gérmenes coliformes totales y de $7,3 \cdot 10^6$ UFC/g de *Escherichia coli*.

La composición de Ácidos Grasos Libres Volátiles para el queso testigo Q1–T luego de ser mantenidos a 10°C durante 60 días, se muestra en la Tabla XV.

En la Tabla XVI se presenta el perfil de ácidos grasos del queso Q1–T de cabra luego de ser mantenidos a 10°C durante 60 días.

Tabla XV: Ácidos Grasos Volátiles Libres en queso de cabra testigo Q1-T, expresados en mg/100 g b/h.

| Producto | C2:0 | C3:0 | Ci4:0 | C4:0 | Ci5:0 | C6:0 |
|------------|-------|------|-------|------|-------|------|
| Queso Q1-T | 16,11 | 0,26 | 0,03 | 6,46 | 0,02 | 5,4 |

Tabla XVI: Perfil de ácidos grasos del queso de cabra testigo Q1-T expresado en porcentajes relativos (% P/P).

| Ácidos Grasos | Producto |
|-------------------|------------|
| | Queso Q1-T |
| C4:0 | 2,05 |
| C6:0 | 2,33 |
| C8:0 | 2,78 |
| C10:0 | 9,92 |
| C10:1 | 0,25 |
| C12:0 | 4,15 |
| C12:1 | 0,10 |
| C14:0 | 8,98 |
| C14:1 + iso C15:0 | 0,62 |
| C15:0 | 1,02 |
| C15:1 | 0,22 |
| C16:0 | 28,56 |
| C16:1 | 1,07 |
| C17:0 | 0,78 |
| C17:1 | 0,29 |
| C18:0 | 11,26 |
| C18:1 | 22,06 |
| C18:2 | 1,44 |
| C18:3 | 1,14 |
| CLA | 0,98 |

Haciendo una comparación entre el perfil de ácidos grasos de la leche (Tabla XIII) y el de los ácidos grasos del queso (Tabla XVI) se puede ver que son muy similares, lo cual estaría revelando que durante el proceso de maduración, la actividad lipolítica resultó prácticamente

despreciable. Este resultado no es de sorprender, por cuanto la lipasa natural de la leche se inactiva durante la pasteurización (Fox P.F. et al., 2015) y el coagulante residual, que también podría aportar alguna impureza con actividad lipolítica, es muy escaso, dado que, como ya se mencionó, la cuajada sólo retiene menos del 15% del total agregado, mientras que el resto se pierde con el suero (Sousa M.J. et al., 2001).

2.3. Quesos elaborados con leche cruda congelada (Q2)

La leche de cabra cruda descongelada, después de 4 meses de conservación, tenía pH de 5,68, una acidez de 24°D y una carga microbiana total de $1,7 \cdot 10^7$ UFC/ml.

Obviamente, esta acidez desarrollada, es consecuencia de una manifiesta actividad microbiana. En efecto, si bien el recuento de gérmenes totales se mantuvo en el orden inicial, la etapa de descongelamiento (en la cual la leche se mantuvo a 10°C durante un día), les permitió reactivarse y continuar con su desarrollo.

En este caso, la elaboración casearia no pudo realizarse, dado que, como era de esperar para una leche con tal grado de acidificación, el calentamiento hasta la temperatura de pasteurización, produjo su coagulación.

En base a esto, ya se podría adelantar que leches con alta carga de microorganismos, y sin un tratamiento térmico previo a la congelación, no son idóneas para ser conservadas por congelación.

En la Figura 27, se puede apreciar el alto grado de inestabilidad que exhibió la leche tras ser descongelada.



Figura 27: Grado de inestabilidad de leche cruda de cabra descongelada a los 4 meses.

De igual modo, el segundo lote de leche, que se descongeló a los 7 meses, debió ser descartado puesto que su inestabilidad se manifestó en la leche al momento mismo de descongelarse. Por ello los quesos Q2-4m y Q2-7m no se elaboraron.

Estas experiencias confirman las sugerencias realizadas por Grille et al (2013) quienes recomiendan tratar térmicamente la leche, con un proceso de pasteurización lento de 63°C por 30 minutos, previo a que congelamiento, a los efectos de disminuir su carga microbiana y, por ende, reducir su posible deterioro, principalmente en cuanto a composición y propiedades fisicoquímicas.

En base a este primer estudio, se infiere que una leche cruda, con una elevada carga microbiana inicial (en el orden de 10^7 UFC/ml), resulta inviable para ser conservada bajo condiciones de congelamiento, dado que se torna muy inestable al descongelarse. De esto surge que, para posteriores trabajos, es necesario tomar todas las medidas higiénicas sanitarias necesarias para reducir la carga microbiana total y/o recurrir a una termización previo al congelamiento de la leche para garantizar su conservación.

2.4. Quesos elaborados a partir de cuajadas congeladas (Q3)

Con esta alternativa, si bien se logró obtener quesos de buena calidad, partiendo de cuajadas congeladas, su manipulación tras ser descongeladas, presentó algunas dificultades durante la etapa de moldeo y prensado, dado que no se logró una adecuada cohesión de la masa.

En principio, este defecto, podría atribuirse a su elevada acidez (pH 5,18), por cuanto, se ha comprobado que, a pesar de que un descenso en el pH (por ejemplo hasta 5,5) puede favorecer la fusión entre los granos de cuajada, si se baja más y, además se enfría, la cuajada no se puede prensar porque la masa se desintegra inmediatamente (Walstra P. et al, 2006d).

En la Tabla XVII se muestran los resultados de las determinaciones microbiológicas realizadas sobre la cuajada original y la cuajada descongelada tras cuatro meses de conservación a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (destinada para la elaboración del queso Q3–4m).

Tabla XVII: Recuentos microbiológicos de cuajada antes de congelar y descongelada a los 4 meses.

| Producto | Gérmenes Coliformes Totales | <i>Escherichia coli</i> |
|----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Cuajada antes de congelar | $>1,5 \cdot 10^4$ UFC/g | $5 \cdot 10^2$ UFC/g |
| Cuajada Q3–4m descongelada | $5,7 \cdot 10^2$ UFC/g | <10 UFC/g |

Tal como podía esperarse, tras el período de congelación, se produjo una reducción en los recuentos microbiológicos. En efecto, como es sabido, el congelamiento, puede tener consecuencias perniciosas sobre las células microbianas, tales como daños en la pared celular, disrupción de membranas debido a la formación de cristales (tanto dentro como fuera de la célula), concentración peligrosa de solutos, etc. (Gill C.O., 2006). Lógicamente, el impacto de estos daños, depende de la matriz alimentaria y del tipo de microorganismo. En este sentido, se ha demostrado que las bacterias Gram negativas son más sensibles que las Gram positivas (Speck M.L. and Ray B., 1977; Jiang Sham-Tzong and Lee Tung-Ching, 2004; Gill C.O., 2006), lo que justificaría que en esta experiencia, *Escherichia coli* prácticamente desaparezca luego del tratamiento. A su vez, cabe destacar que estos resultados están en concordancia con el estudio realizado por Park Y. et al (2004), en el cual, a través del almacenamiento en condiciones de congelación de quesos blandos de leche de cabra, lograron reducir los microorganismos en estudio, confirmando así que esta metodología es una alternativa factible para la conservación y posterior comercialización de estos productos, sin sufrir un deterioro microbiano.

En la Tabla XVIII se transcriben los valores de las determinaciones fisicoquímicas realizadas a la cuajada antes y después de su conservación durante 4 meses en condiciones de congelación.

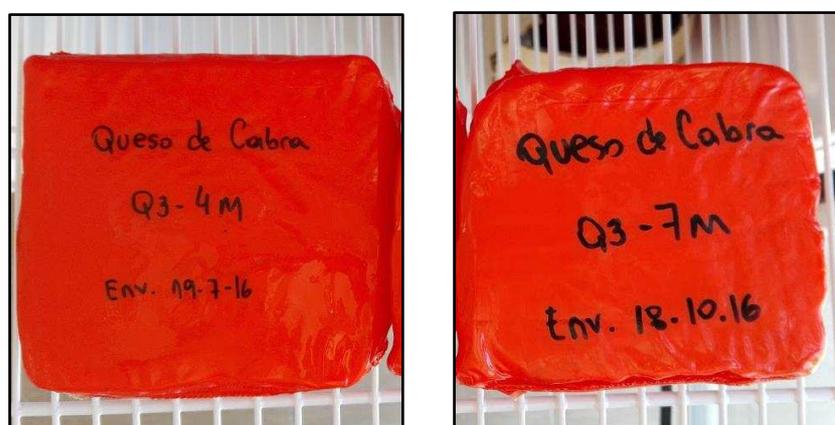
Tabla XVIII: Ensayos fisicoquímicos de cuajada antes de congelar y descongelada a los 4 meses.

| Producto | Humedad (%P/P) | Materia Grasa (%P/P) | Sólidos Totales (%P/P) | Proteínas Totales (%P/P) | Cenizas (%P/P) | pH |
|----------------------------|----------------|----------------------|------------------------|--------------------------|----------------|------|
| Cuajada antes de congelar | 49,45 | 28,43 | 50,55 | 19,2 | 2,04 | 5,62 |
| Cuajada Q3-4m descongelada | 45,29 | 29,64 | 54,71 | 22,03 | 2,27 | 5,18 |

Como puede observarse, luego de mantener la cuajada en condiciones de congelación durante cuatro meses, se verificó una reducción en el contenido de humedad, del orden del 8,4%. La pérdida de humedad en los productos congelados, se debe esencialmente a la deshidratación superficial sufrida durante el proceso de enfriamiento y congelación (por evaporación y sublimación, respectivamente), la cual, además de ocasionar un deterioro en la calidad del producto (textura, sabor, etc.), incrementa la concentración de sus distintos componentes, tal como se verificó en este caso (Devine C.E. et al, 1996; Méndez-Lagunas L.L. et al, 2008; Campañone L.A. et al, 2001; Campañone L.A. et al, 2002).

Los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de las cuajadas conservadas congeladas por 7 meses (no reportados en el presente informe) fueron muy semejantes a los determinados para las cuajadas almacenadas congeladas por 4 meses.

En la Figura 28 se pueden apreciar los quesos Q3-4m y Q3-7m (elaborados a partir de cuajadas congeladas por 4 y 7 meses), al final de la maduración, en sus respectivos envases.

**Figura 28:** Quesos elaborados a partir de cuajadas congeladas por 4 y 7 meses.

Los valores de las determinaciones realizadas a los quesos obtenidos con cuajadas que se mantuvieron congeladas durante 4 y 7 meses (Q3–4m y Q3–7m), proporcionaron los resultados presentados en la Tabla XIX.

Tabla XIX: Parámetros fisicoquímicos de los quesos obtenidos con cuajadas conservadas congeladas por 4 y 7 meses.

| Productos | Humedad (%P/P) | Materia Grasa (%P/P) | Sólidos Totales (%P/P) | Nitrógeno Total (%P/P) | Nitrógeno Soluble (%P/P) | Grado de Maduración |
|-------------|----------------|----------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------|
| Queso Q3–4m | 41,99 | 31,75 | 58,01 | 3,52 | 1,19 | 33,81 |
| Queso Q3–7m | 41,89 | 29,4 | 58,11 | 3,41 | 0,94 | 27,57 |

Si bien se observan ligeras diferencias entre algunos de los parámetros analizados, en particular, en el Grado de Maduración, no es posible realizar una interpretación concluyente sobre los mismos, por cuanto se trata de una experiencia preliminar, en la que dichas diferencias podrían estribar en ligeras variaciones, tanto en el proceso de elaboración, como en las técnicas analíticas empleadas.

En lo que respecta al recuento microbiológico de bacterias Coliformes y *Escherichia coli*, se pudo comprobar que, para ambos quesos (Q3–4m y Q3–7m), los valores obtenidos fueron menores a 10 UFC/g. Teniendo en cuenta que se partió de una cuajada con $5,7 \cdot 10^2$ UFC/g de gérmenes coliformes totales y menos de <10 UFC/g de *E. coli*, la disminución de los primeros, podría atribuirse principalmente la acción inhibidora que genera la conjunción del ácido láctico producido por estárter (que desciende rápidamente el pH, llegando a ~5,0 a las 48h), y la concentración salina del medio (Reinheimer J.A. et al, 1988; Reinheimer J.A. et al, 1990; Fox P.F. et al, 2017b).

Respecto a los Ácidos Grasos Libres Volátiles (ALGV), los quesos mostraron el siguiente perfil (Tabla XX).

Tabla XX: Concentración de Ácidos Grasos Libres Volátiles (AGLV) en los quesos obtenidos con cuajadas congeladas por 4 y 7 meses, expresados en mg/100g b/h.

| Productos | C2:0 | C3:0 | Ci4:0 | C4:0 | Ci5:0 | C6:0 |
|-------------|-------|------|-------|------|-------|------|
| Queso Q3-4m | 38,65 | 0,15 | 0,04 | 8,17 | 0,04 | 6,13 |
| Queso Q3-7m | 35,04 | 0,13 | 0,04 | 6,91 | 0,04 | 5,30 |

Aunque aquí también se pueden apreciar algunas diferencias entre los quesos Q3-4m y Q3-7m, sería impropio asociarlas a una variación en la actividad enzimática y/o metabólica, dado que, como ya se mencionó, tratándose de una única experiencia, éstas podrían deberse a eventuales errores operativos que redunden en una falta de reproducibilidad metodológica, tal como se asumió para los parámetros fisicoquímicos.

Análisis sensorial

En la Tabla XXI, se presentan los resultados obtenidos para los diferentes atributos estudiados, en base al análisis descriptivo cuantitativo realizado por el panel entrenado, sobre muestras de los quesos Q3-4m y Q3-7m.

Tabla XXI: Perfil sensorial de los quesos obtenidos con cuajadas congeladas por un tiempo de 4 y 7 meses.

| Perfil Sensorial | Productos | |
|----------------------------|-------------|-------------|
| | Queso Q3-4m | Queso Q3-7m |
| Intensidad de olor | 4,8 | 4,2 |
| Intensidad de Aroma típico | 4,8 | 4,3 |
| Dulce | 2,8 | 1,8 |
| Salado | 3,4 | 2,8 |
| Ácido | 3,6 | 4,8 |
| Amargo | 3 | 3,2 |
| Picante | 3,6 | 2,6 |
| Astringente | 3,6 | 2,6 |
| Ardiente | 3,2 | 2,6 |
| Refrescante | 3,2 | 1,8 |
| Acre | 1,6 | 1,2 |
| Metálico | 0,8 | 1,6 |
| Gusto Residual | 3,8 | 3,8 |
| Persistencia | 4,4 | 3,4 |
| Elasticidad | 2,6 | 1,6 |
| Firmeza | 3,4 | 2,4 |
| Friabilidad | 4,2 | 4 |
| Adherencia | 2,8 | 3 |
| Cristales | 1 | 1 |
| Solubilidad | 4,2 | 3,4 |
| Humedad | 3,4 | 2,6 |

Paralelamente, a los efectos de facilitar la comparación entre ambos quesos, en la Figura 29, se muestran los mismos valores plasmados en un gráfico de araña.

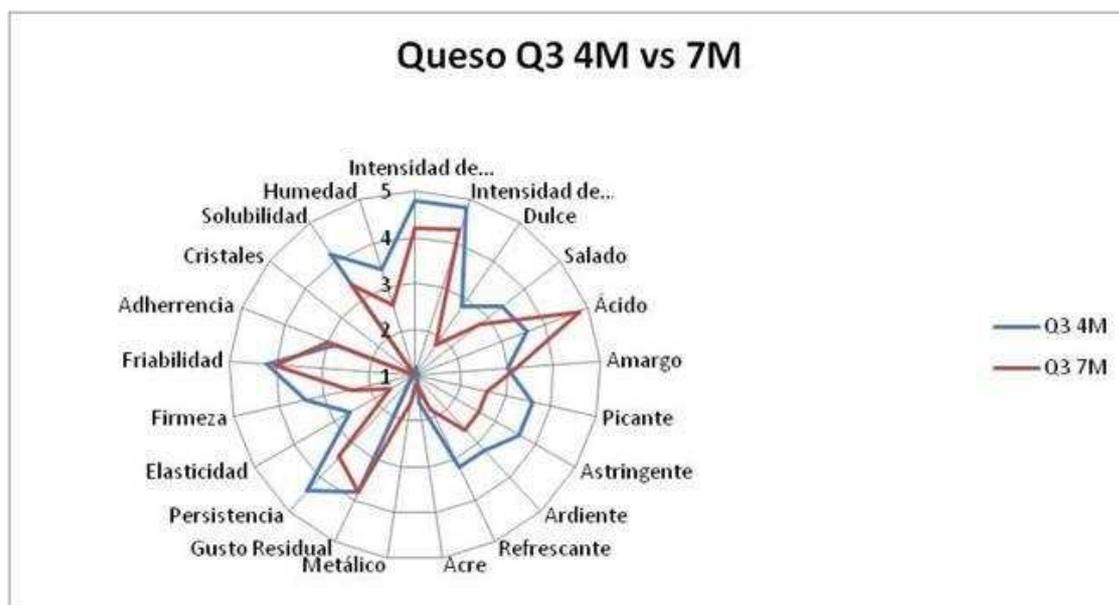


Figura 29: Perfil sensorial de quesos obtenidos con cuajadas congeladas por 4 y 7 meses.

A pesar de que, como ya se indicó, no sería pertinente hacer una valoración de calidad entre un queso y otro, dado que se trata de una primera experiencia, puede decirse que, en términos generales, los quesos obtenidos respondieron correctamente a los parámetros ensayados. En este sentido, cabe destacar que los resultados son coincidentes con los alcanzados por Curi A.R. y Bonassi A.I. (2007) en su investigación sobre el uso de leche y cuajadas congeladas, quienes, a su vez, encontraron que los quesos elaborados con estas últimas, presentaron problemas de textura.

2.5. Quesos elaborados a partir de masa casearia (queso sin madurar) congelada (Q4)

El estudio de las propiedades fisicoquímicas realizado en la masa casearia (Q4-4m) antes de la congelación y luego de permanecer congeladas por 4 meses, arrojó los resultados mostrados en la Tabla XXII.

Tabla XXII: Determinaciones fisicoquímicas llevadas a cabo sobre masas casearias (queso sin madurar), antes de congelar y descongelada a los 4 meses.

| Producto | Humedad (%P/P) | Materia Grasa (%P/P) | Sólidos Totales (%P/P) | Proteínas Totales (%P/P) | Cenizas (%P/P) | pH |
|----------------------------------|----------------|----------------------|------------------------|--------------------------|----------------|------|
| Masa casearia antes de congelar | 41,95 | 29,73 | 58,05 | 22,31 | 3,9 | 5.2 |
| Masa casearia Q4-4m descongelada | 42,75 | 29,99 | 57,25 | 21,35 | 3,36 | 5,01 |

Como puede verse, la conservación de la masa durante cuatro meses, bajo condiciones de congelación produjo ligeras variaciones en los parámetros estudiados. No obstante, para saber si éstas responden diferencias significativas, se requeriría la realización de nuevas experiencias.

Por otra parte, los recuento de bacterias Coliformes y *Escherichia coli* de la masa casearia de sin madurar antes de congelar y descongelada después de 4 meses, indicaron los valores descriptos en la Tabla XXIII.

Tabla XXIII: Recuentos microbiológicos de masas casearia (queso sin madurar), antes de congelar y descongelada a los 4 meses.

| Producto | Gérmes Coliformes Totales | <i>Escherichia coli</i> |
|----------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Masa casearia antes de congelar | $1,4 \cdot 10^2$ UFC/g | 9.10 UFC/g |
| Masa casearia Q4-4m descongelada | 10 UFC/g | 10 UFC/g |

En este caso, nuevamente se observa una reducción en el número de Gérmes Coliformes y de *Escherichia coli* (de aproximadamente un orden logarítmico), lo cual, como ya se mencionó, puede atribuirse, principalmente, a la acción acidificante del estárter.

En la Figura 30 se pueden ver las masas casearias sin madurar previas a la congelación.



Figura 30: Masas casearias sin madurar previas a la congelación.

En lo que respecta al estudio de las masas casearias sin madurar, conservadas congeladas por 7 meses, los valores obtenidos para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos analizados (no reportados en el presente informe) fueron muy semejantes a los determinados para las masas de quesos, sin madurar, almacenadas congeladas por 4 meses. A partir de esta observación, se puede inferir que, frente a la necesidad, el tiempo de conservación de la masa de queso congelada, puede extenderse más allá de cuatro meses, sin perjuicio de sus propiedades.

En cuanto al análisis de los quesos maduros (60 días a 10°C), elaborados a partir de las masas casearias sin madurar, congeladas y conservadas durante 4 y 7 meses, a través de los parámetros investigados, se obtuvieron los valores que se detallan en la Tabla XXIV.

Tabla XXIV: Ensayos fisicoquímicos de quesos obtenidos con masas casearias (queso sin madurar) congeladas por 4 y 7 meses.

| Producto | Humedad (%P/P) | Materia Grasa (%P/P) | Sólidos Totales (%P/P) | Nitrógeno Total (%P/P) | Nitrógeno Soluble (%P/P) | Grado de Maduración |
|-------------|----------------|----------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------|
| Queso Q4-4m | 42,25 | 31,5 | 57,75 | 3,47 | 1,24 | 35,73 |
| Queso Q4-7m | 42,17 | 30,51 | 57,83 | 3,42 | 1,1 | 32,16 |

Como era de esperar, dada la semejanza que presentaron las masas casearias conservadas durante 4 y 7 meses, los quesos obtenidos a partir de ellas, exhibieron parámetros fisicoquímicos con valores muy próximos.

Análogamente, el perfil de Ácidos Grasos Libres Volátiles (ALGV), fue muy semejante para los dos quesos, con ligeras diferencias, en el caso de C2:0 y C6:0, que probablemente estribaron en eventuales errores operativos (Tabla XXV).

Tabla XXV: Determinación de Ácidos Grasos Libres Volátiles (ALGV), en los quesos obtenidos con masas casearias (queso sin madurar), congeladas por 4 y 7 meses, expresados en mg/100g b/h.

| Producto | C2:0 | C3:0 | Ci4:0 | C4:0 | Ci5:0 | C6:0 |
|-------------|-------|------|-------|-------|-------|------|
| Queso Q4-4m | 28,88 | 0,15 | 0,04 | 11,45 | 0,04 | 9,13 |
| Queso Q4-7m | 26,68 | 0,14 | 0,04 | 10,46 | 0,04 | 7,98 |

En lo atinente, el análisis microbiológico, el recuento de bacterias Coliformes y *Escherichia coli*, arrojó, para ambos quesos un valor inferior a 10 UFC/g, debido, seguramente, a la actividad del fermento ya mencionada.

Finalmente, en la Tabla XXVI, se presentan los valores obtenidos para los distintos atributos ponderados mediante el análisis descriptivo cuantitativo, realizado por el panel entrenado, los que, también son llevados a un gráfico de araña (Figura 31) para facilitar su comparación.

Tabla XXVI: Perfil Sensorial de quesos obtenidos con masas casearias (queso sin madurar), congeladas por 4 y 7 meses.

| Perfil Sensorial | Producto | |
|----------------------------|-------------|-------------|
| | Queso Q4-4m | Queso Q4-7m |
| Intensidad de olor | 4,4 | 4,2 |
| Intensidad de Aroma típico | 4 | 4,4 |
| Dulce | 2,6 | 1,8 |
| Salado | 2,8 | 3,2 |
| Ácido | 3,2 | 4,3 |
| Amargo | 3,2 | 2,4 |
| Picante | 3,4 | 2,6 |
| Astringente | 3,2 | 2,2 |
| Ardiente | 3,2 | 2,2 |
| Refrescante | 3 | 1,4 |
| Acre | 1,8 | 1,4 |
| Metálico | 1 | 1,4 |
| Gusto Residual | 3,8 | 3,4 |
| Persistencia | 4,2 | 3,2 |
| Elasticidad | 2,4 | 1,6 |
| Firmeza | 3,4 | 2,4 |
| Friabilidad | 4,8 | 4 |
| Adherencia | 3,4 | 3,2 |
| Cristales | 1 | 1 |
| Solubilidad | 3,6 | 3,2 |
| Humedad | 3,2 | 2,4 |

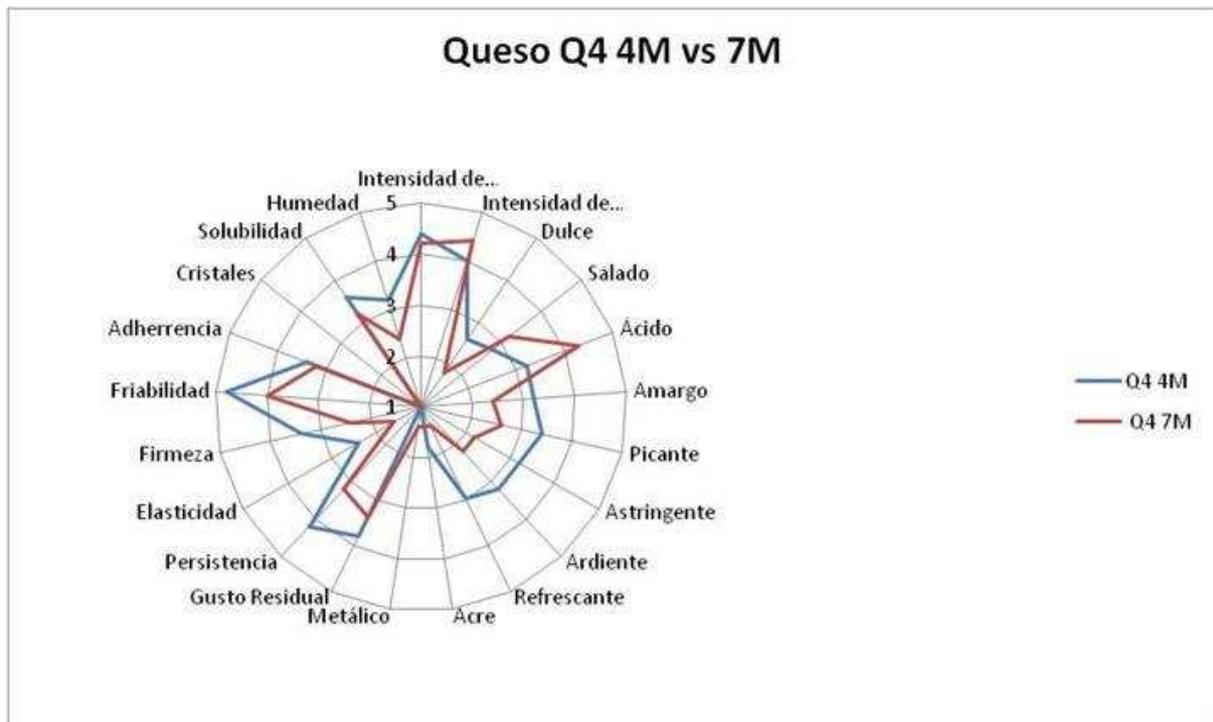


Figura 31: Perfil sensorial de quesos obtenidos con masas casearias (queso sin madurar), congeladas por 4 y 7 meses.

Como ya se señaló en el Punto 2.4, para el análisis sensorial de los quesos Q3–4m y Q3–7m, si bien, en este caso, también se observan algunas diferencias en los valores asignados a los atributos evaluados en cada queso, una sola experiencia resulta insuficiente para extraer un resultado concluyente.

2.6. Análisis comparativo de los quesos elaborados

En la Tabla XXVII se muestran los valores obtenidos a partir del análisis fisicoquímico del queso testigo (Q1–T), quesos obtenidos con cuajada congelada por 4 y 7 meses (Q3–4m y Q3–7m), y quesos elaborados con masas casearias (sin madurar) congeladas por 4 y 7 meses (Q4–4m y Q4–7m).

Tabla XXVII: Comparación de determinaciones fisicoquímicas en quesos ensayados.

| Determinaciones | Quesos | | | | |
|--------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | Q1-Testigo | Q3-4m | Q3-7m | Q4-4m | Q4-7m |
| Materia Grasa (%P/P) | 31,17 | 31,75 | 29,4 | 31,5 | 30,51 |
| Materia Grasa (bs)(%P/P) | 53,21 | 54,73 | 50,64 | 54,55 | 52,76 |
| Proteínas (%P/P) | 22,40 | 22,46 | 21,42 | 21,79 | 21,82 |
| Nitrógeno Total (%P/P) | 3,51 | 3,52 | 3,41 | 3,47 | 3,42 |
| Nitrógeno Soluble (%P/P) | 1,04 | 1,19 | 0,94 | 1,24 | 1,1 |
| Grado de Maduración | 29,69 | 33,81 | 27,57 | 35,73 | 32,16 |
| Sólidos Totales (%P/P) | 58,58 | 58,01 | 58,11 | 57,75 | 57,83 |
| Humedad (%P/P) | 41,42 | 41,99 | 41,89 | 42,25 | 42,17 |

Como puede verse, el contenido de materia grasa tuvo valores similares en todas las tecnologías empleadas, verificándose una leve disminución en los quesos cuyos procesos de congelación duraron 7 meses con respecto a los de 4 meses. Esta apreciación, coincide con lo reportado por Grille L. y col (2013), quienes observaron que los valores de materia grasa, disminuyeron durante el tiempo de congelación de las diferentes matrices estudiadas.

Por otro lado, teniendo en cuenta los parámetros que establece el CAA (quesos con 45,0 y 59,9% de materia grasa en el extracto seco), es factible afirmar que todos los quesos elaborados en esta experiencia pueden ser considerados grasos. Asimismo, en base al contenido de humedad, cuyo rango se encontró entre 41,42 y 42,25%, de acuerdo al CAA, estos quesos se clasifican como semiduros.

En relación al Grado de Maduración (GM), se comprobó que hubo una mayor diversidad, en la que los valores más bajos correspondieron a los quesos Q1-Testigo y Q3-7m. Con respecto al primero (Q1-Testigo), en principio, esta observación podría justificarse, si se tiene en cuenta que, durante las etapas de congelamiento, conservación y descongelamiento, involucradas en la elaboración de los quesos Q3-4m, Q3-7m, Q4-4m y Q4-7m, se incrementan las enzimas provenientes de la lisis de los microorganismos que no resistieron dichos tratamientos, y que, al

ser volcadas al medio, pueden participar del proceso de maduración. Por el contrario, en el caso del queso Q3-7m, su bajo GM (27,57), a priori, sólo se puede atribuir a un error en el procesamiento de la muestra, pero esto debería confirmarse a través de nuevos ensayos.

Para lograr una mejor apreciación comparativa, entre los distintos quesos, en la Figura 32 se presenta un diagrama de barras, en el cual se reproducen los valores de la Tabla precedente.

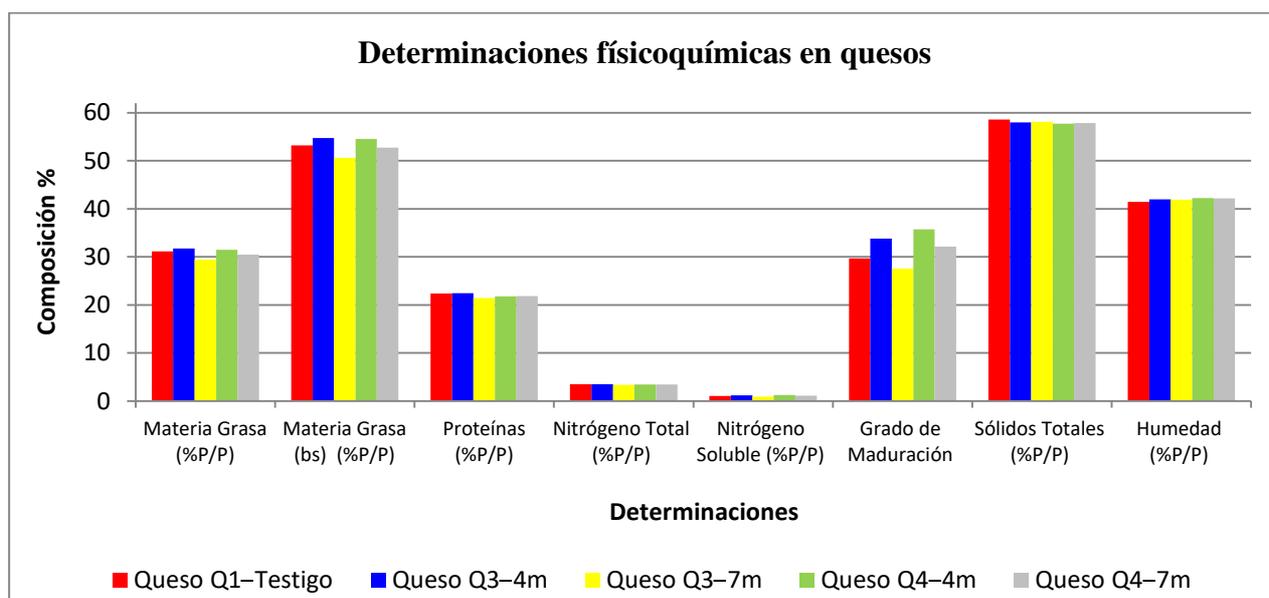


Figura 32: Comparación de determinaciones físicoquímicas en quesos ensayados.

En síntesis, si bien, el análisis de la composición global revela diferencias menores, como ya se señaló, estos resultados corresponden a un estudio preliminar, que no permite inferir conclusiones objetivas acerca de las mismas. Por lo tanto, esta discusión se debería realizar cuando se disponga de un mayor número de experiencias, cuyos resultados se puedan analizar estadísticamente, y determinar fehacientemente si estas diferencias son o no significativas.

En la Tabla XXVIII y Figura 33 se muestra la comparación de los perfiles de los Ácidos Grasos Libres Volátiles (AGLV), lo cual permite realizar una cierta estimación sobre el desarrollo de la lipólisis producida durante la maduración de los quesos.

Tabla XXVIII: Comparación de determinaciones de AGLV en quesos ensayados, expresado en mg/100g b/h.

| Determinaciones | Queso | | | | |
|-----------------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | Q1-Testigo | Q3-4m | Q3-7m | Q4-4m | Q4-7m |
| C2:0 | 16,11 | 38,65 | 35,04 | 28,88 | 26,68 |
| C3:0 | 0,26 | 0,15 | 0,13 | 0,15 | 0,14 |
| Ci4:0 | 0,03 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 |
| C4:0 | 6,46 | 8,17 | 6,91 | 11,45 | 10,46 |
| Ci5:0 | 0,02 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,04 |
| C6:0 | 5,4 | 6,13 | 5,3 | 9,13 | 7,98 |

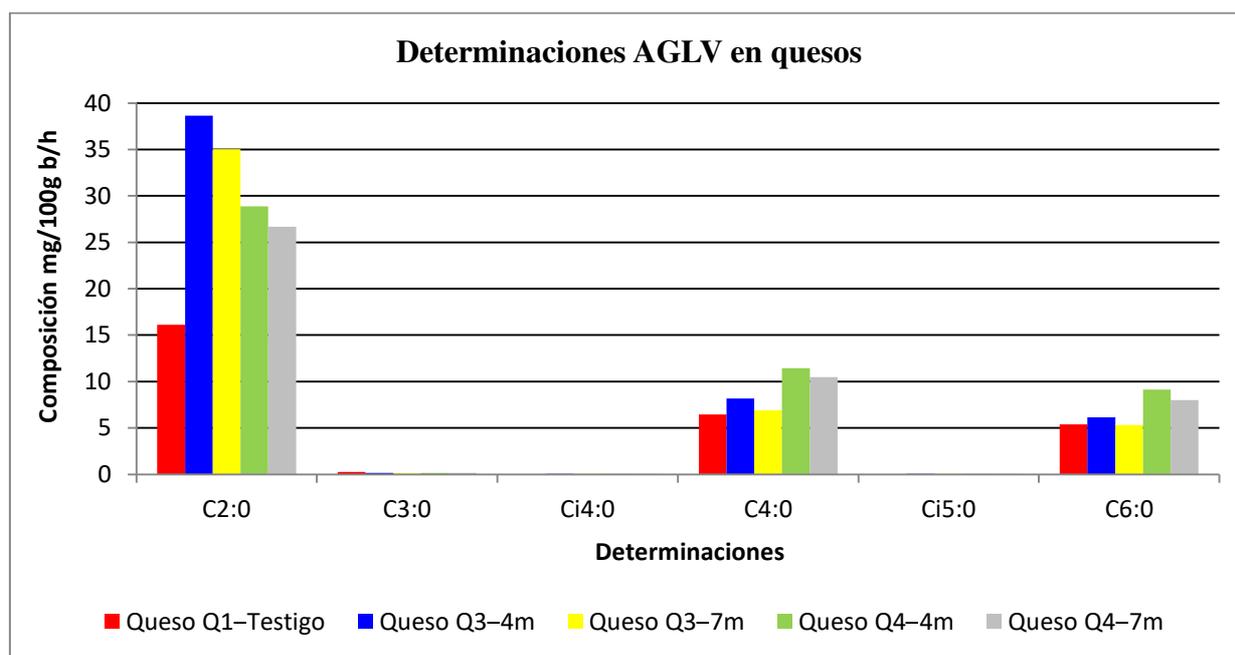


Figura 33: Comparación de determinaciones de AGLV en quesos ensayados.

El análisis de los perfiles de ácidos grasos volátiles, revela un incremento importante en la concentración de C₂ (ácido acético) en los quesos cuyo protocolo de elaboración incluyó alguna etapa (de 4 y 7 meses) de conservación por congelamiento. Sin embargo, sería plausible asociar este incremento más un desarrollo de microorganismos heterofermentativos (que

fermentaron a la lactosa, con producción de ácido acético) que a un mero proceso lipolítico. No obstante, para verificar esta teoría, en experiencias futuras, será necesario implementar recuentos microbiológicos de microorganismos específicos.

En la Tabla XXIX se presenta una relación comparativa de los perfiles de Ácidos Grasos Totales de los quesos en estudio.

Tabla XXIX: Comparación de Perfiles de Ácidos Grasos en quesos ensayados, expresados en g/100 g ácidos grasos totales.

| Determinaciones | Queso | | | | |
|-------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| | Q1 – Testigo | Q3–4m | Q3–7m | Q4–4m | Q4–7m |
| C4:0 | 2,05 | 1,78 | 2,05 | 1,81 | 2,06 |
| C6:0 | 2,33 | 2,11 | 2,29 | 2,17 | 2,32 |
| C8:0 | 2,78 | 2,59 | 2,74 | 2,62 | 2,74 |
| C10:0 | 9,92 | 9,59 | 9,91 | 9,77 | 9,95 |
| C10:1 | 0,25 | 0,25 | 0,24 | 0,25 | 0,25 |
| C12:0 | 4,15 | 4,04 | 4,10 | 4,13 | 4,12 |
| C12:1 | 0,1 | 0,11 | 0,10 | 0,11 | 0,11 |
| C14:0 | 8,98 | 8,90 | 8,97 | 9,04 | 8,93 |
| C14:1 + iso C15:0 | 0,62 | 0,61 | 0,61 | 0,62 | 0,61 |
| C15:0 | 1,02 | 1,03 | 1,02 | 1,03 | 1,01 |
| C15:1 | 0,22 | 0,24 | 0,24 | 0,23 | 0,24 |
| C16:0 | 28,56 | 28,91 | 28,8 | 29,22 | 28,6 |
| C16:1 | 1,07 | 1,10 | 1,10 | 1,10 | 1,11 |
| C17:0 | 0,7 | 0,74 | 0,71 | 0,72 | 0,71 |
| C17:1 | 0,29 | 0,35 | 0,37 | 0,36 | 0,37 |
| C18:0 | 11,26 | 11,74 | 11,38 | 11,82 | 11,23 |
| C18:1 | 22,01 | 22,88 | 22,58 | 22,64 | 22,88 |
| C18:2 | 1,44 | 1,51 | 1,44 | 1,46 | 1,46 |
| C18:3 | 1,14 | 0,48 | 0,38 | 0,49 | 0,36 |
| CLA | 0,98 | 0,89 | 0,84 | 0,55 | 0,82 |

Como se discutió anteriormente, las pequeñas diferencias que se observan, se deben a variaciones metodológicas fortuitas, dado que se partió de una misma leche y se empleó igual protocolo de elaboración para todos los quesos.

En el siguiente gráfico (Figura 34), se puede apreciar perfil sensorial de los cuatro quesos ensayados, obtenido a partir del Análisis Descriptivo Cuantitativo.

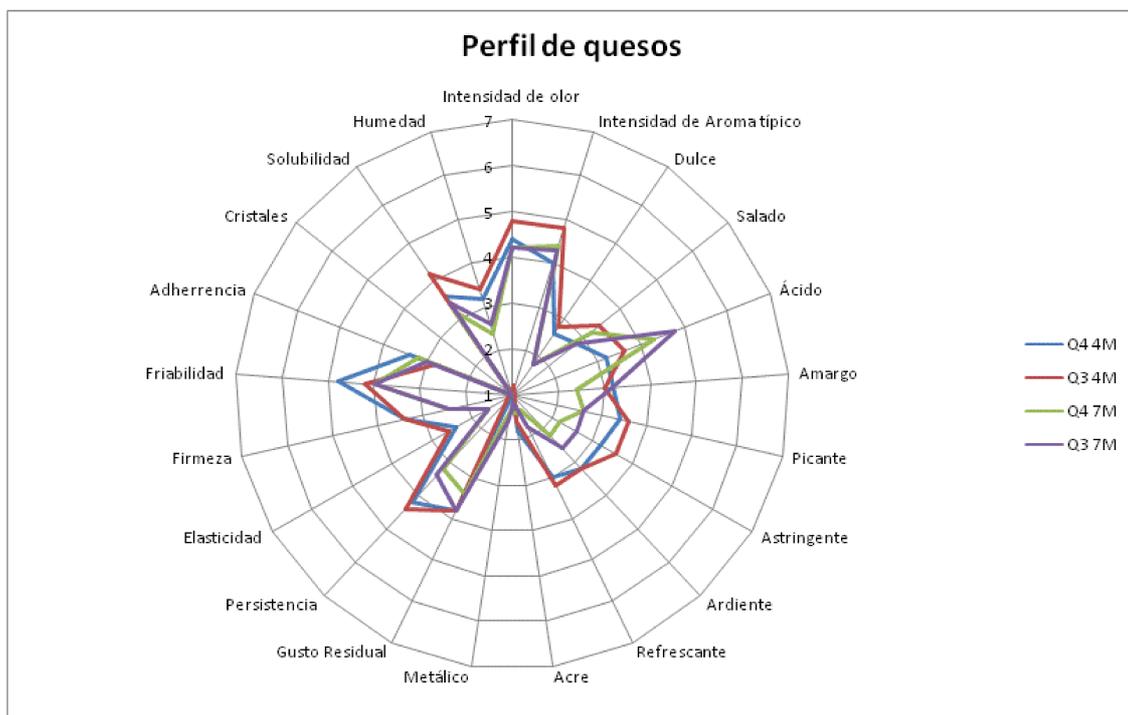


Figura 34: Comparación de Perfiles Sensoriales de quesos ensayados.

En base a los resultados obtenidos a través de este análisis, se pudo verificar que:

- No se encontraron diferencias significativas (con un $\alpha < 0.05$), para los quesos de diferentes tratamientos (Q3 y Q4) a un mismo tiempo de evaluación.
- Si hubo diferencias significativas (con un $\alpha: 0.05$) y aplicando el test LSD (Least Significant Difference Test) para un mismo tratamiento (Q3 o Q4) a diferentes tiempos de evaluación.

CONCLUSIONES

V- CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos preliminares alcanzados en el presente estudio, se puede concluir que:

❖ Si bien se lograron buenos resultados con los dos tiempos de congelación adoptados (independientemente de que se trate de cuajada o masa casearia sin madurar), en términos generales, el período de 4 meses, se reveló como la mejor alternativa para asegurar disponibilidad de quesos de cabra por un lapso mayor al de producción de leche caprina, dado que los quesos obtenidos bajo esas condiciones, presentaron mejores características y no se vio afectada la calidad de los parámetros estudiados. No obstante, se considera importante continuar con el estudio, por cuanto se pretende optimizar las propiedades de los quesos obtenidos para el tiempo de congelación de 7 meses, los cuales exhibieron gustos ligeramente ácidos, que se percibieron con una intensidad intermedia.

❖ El comportamiento de leches con alta carga de microorganismos, permite inferir que, sin tratamiento térmico (termización) previo a la congelación, éstas no son aptas para ser conservadas bajo tales condiciones.

❖ Aunque el tratamiento de congelación de cuajadas, permitió obtener quesos de buenas características a partir de éstas, luego del congelamiento, el manejo de la matriz casearia, especialmente durante la etapa de moldeo, se dificulta, probablemente debido a su bajo pH. En virtud de ello, en un futuro, se procurará repetir estos ensayos, pero introduciendo algunas modificaciones en el desarrollo del proceso, orientadas a subsanar estos inconvenientes. En este sentido se implementarán dos alternativas:

a- Mantener la metodología empleada en estos estudios preliminares pero tomando la precaución de colocar la cuajada en el molde. De esta manera, se dispondría de una cuajada con la forma del queso, a un pH normal (propio del final de prensado), que luego de ser descongelada sólo necesitaría someterse al salado y posterior maduración.

b- Extraer la cuajada y congelarla rápidamente de manera de que su pH no descienda por debajo de 6,30–6,40. Luego efectuar una descongelación controlada, procurando que, al momento del moldeo, el pH no sea inferior a 6,0 y de esta manera se pueda lograr una adecuada cohesión de masa del queso.

❖ Los recuentos microbiológicos de indicadores higiénicos sanitarios, en todos los quesos analizados, arrojaron valores menores a 10 UFC/g. Este es un aspecto de suma importancia, por cuanto permite afirmar que dichos valores se encuentran dentro de los límites establecidos por el CAA, el cual establece que, una población mayor a 1.10^3 UFC/g para gérmenes coliformes o a 1.10^2 UFC/g para *E. coli*, se consideran alimentos no aptos para consumo humano dado que estos microorganismos son los responsables de las enfermedades transmitidas por esta vía.

❖ Los quesos Testigo (no congelados) presentaron niveles mayores de microorganismos que los quesos elaborados a partir de una matriz congelada, lo cual reafirma la conveniencia de esta metodología, para asegurar la conservación y posterior comercialización de estos productos, sin sufrir un deterioro microbiano.

BIBLIOGRAFÍA

VI- BIBLIOGRAFÍA

1. AACREA (2005). "CAPRINOS". En Agro alimentos Argentinos II. Editado por la Asociación Argentina de Consorcios Regionales de Experimentación Agrícola. pp. 245 a 252.
2. Aehle W. (2007). Enzymes in Industry. Production and Applications. 3° Edition. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Chapter 5. Industrial Enzymes. Enzymes in Dairy Applications, pp. 135-143.
3. Alais Ch. (1985a). Composición de la leche. En Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 4ta. Edición. Ed. Reverté S.A., Barcelona (España). Capítulo 3, pp. 21-30.
4. Alais Ch. (1985b).Prótidos. Caseína y fenómeno de la coagulación. En Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 4ta. Edición. Ed. Reverté S.A., Barcelona (España). Capítulo 6, pp. 103-204.
5. Alais Ch. (1985c).Nata y mantequilla. En Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 4ta. Edición. Ed. Reverté S.A., Barcelona (España). Capítulo 20, pp. 583-616.
6. Alais Ch. (1985d).Quesos. Enzimas coagulantes. Métodos modernos. En Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 4ta. Edición. Ed. Reverté S.A., Barcelona (España). Capítulo 21, pp. 617-762.
7. Amigo L. and J Fontecha J. (2011). Goat Milk. En Encyclopedia of Dairy Science. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol. 3, pp. 484-493.
8. Andrén A. (2011). Rennets and Coagulants. En Encyclopedia of Dairy Science. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol 1, pp. 574-578.
9. Bachmann H-P, Fröhlich-Wyder M.T., Jakob E., Roth E., and Wechsler D. (2011). Raw Milk Cheeses. En Encyclopedia of Dairy Science. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol. 1, pp. 652-660.
10. Bansal N., Drake M.A., Piraino P., Broe M.L., Harboe M., Fox P.F., McSweeney P.L.H. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. International Dairy Journal 19, pp 510–517.

11. Bennett R.J. and Johnston K.A. (2004). General Aspects of Cheese Technology. En Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Third edition. Ed. Edited by Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. and Guinee T.P. De Elsevier Academic Press. Volume 2: Major Cheese Groups, pp. 23-50.
12. Berg J.M., Tymoczko J.L. and Stryer L. (2008). Enzimas: conceptos básicos y cinética. En Bioquímica. 6º Ed., Editorial Reverté S.A. Barcelona, España. Capítulo 8, pp. 205-240.
13. Bergamini C.V., Wolf I.V., Perotti M.C., Zalazar C.A. (2010). Characterization of biochemical changes during ripening in Argentinean sheep cheeses. Small Ruminant Research. 94, pp. 79-89.
14. Bertola, N., Candioti, M., Bevilacqua, A., Zaritsky, N., Hynes, E.. (2011). Impact of primary proteolysis on texture and meltability of soft cheese. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia* 61 (5), pp. 279-294.
15. Broome M.C., Powell I.B. and Limsowtin G.K.Y. (2011). Cheese: Starter Cultures: Specific Properties. En *Encyclopedia of Dairy Science*. 2º Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol 1, pp. 559-566.
16. Calvo M., Law A.J., Leaver J. (1995). Heat-induced interactions between serum albumin, immunoglobulin and k-casein inhibit the primary phase of renneting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 (11), pp. 2823-2827.
17. Campañone L.A., Roche L.A., Salvadori V.O. and Mascheroni R, H. (2002). Monitoring of Weight Losses in Meat Products during Freezing and Frozen Storage. *Food Science and Technology International*, 8 (4), pp. 229–238.
18. Campañone L.A., Salvadori V.O. and Mascheroni R.H. (2001). Weight loss during freezing and storage of unpackaged foods. *Journal of Food Engineering*, 47, pp. 69–79.
19. Candioti M., Meinardi C., Zalazar C. (2004). Effect of treatment of milk higher than pasteurization on protein distribution and clotting properties. *Milchwissenschaft*, 59 (3/4), pp. 126-130.

-
20. Candioti M.C., Bergamini C.B., Palma S.B., Busetti M., Meinardi C. A. and Zalazar C.A. (2009). Characterization of proteolysis profile of Argentinean sheep cheeses made by two different production methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol 90, pp. 36-42.
 21. Candioti M.C., Hynes E., Meinardi C.A., Perotti M.C. and Zalazar C.A. (2002a). Cultures for Reggianito cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*. 57, pp.170.
 22. Candioti M.C., Hynes E., Quiberoni A., Palma S.B. and Zalazar C.A. (2002b). Reggianito Argentine cheese: Influence of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from natural whey cultures on cheese making and ripening processes. *International Dairy Journal*. 12, pp. 923-931.
 23. Candioti, M.C., Palma, S.B., Ávila, A.T. y Meinardi, C.A. (2004/05). Efecto de la desnaturalización térmica de proteínas de suero sobre la aptitud a la coagulación y el rendimiento quesero. *Revista Argentina de Lactología*, N° 23, pp. 77-87.
 24. Castañeda, R., Ogara, M., Storani, E., Fiora, J., etc. (2005a). De la tina quesera al prensado. En *Manual para la eficiencia productiva de la PyME Quesera. Proyecto Incremento de la Eficiencia Energética y Productiva en la PyME Argentina*. Capítulo 6, pp. 65-88.
 25. Castañeda, R., Ogara, M., Storani, E., Fiora, J., etc. (2005b) El salado de los quesos. En *Manual para la eficiencia productiva de la PyME Quesera. Proyecto Incremento de la Eficiencia Energética y Productiva en la PyME Argentina*. Capítulo 7, pp. 89-94.
 26. Castillo I., Calvo M.V., Alonso L., Juárez M. and Fontecha J. (2007). Changes in lipolysis and volatile fraction of a goat cheese manufactured employing a hygienized rennet paste and a defined strain starter. *Food Chemistry*. 100, pp. 590–598.
 27. Código Alimentario Argentino. Administración Nacional de Alimentos, Medicamentos y Tecnología Médica (ANMAT). Alimentos Lácteos. Cap. VIII. Art. 605. Inciso 4. (Actualizado al 10/2014). Ed. De La Canal & Asoc. SRL. Recuperado en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf

28. Corredig M., Dalgleish D.G. (1996a). Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk. *Food Research International* 29 (1), pp. 49-55.
29. Corredig M., Dalgleish D.G. (1996b). The binding of b-lactoglobulin and a-lactoalbumin to casein micelles in milk treated by different heating systems. *Milchwissenschaft* 51 (3), pp. 123-127.
30. Cuffia F., Candiotti M.C., Bergamini C.B. (2015). Influence of brine concentration on the ripening of a soft sheep`s milk cheese. *Small Ruminant Research*. 132, pp. 60–66.
31. Curi A.R., Bonassi A.I. (2007). Elaboração de um queijo análogo ao pecorino romano produzido com leite de cabra e coalhada congelados. *Ciência e Agrotecnologia / Universidade Federal de Lavras (Brasil)*. V. 31, Nº 1, pp. 171-176.
32. Chacón Villalobos, A. (2005). Aspectos nutricionales de la leche de cabra (*Caprahircus*) y sus variaciones en el proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*. 16(2), pp. 239-252.
33. Chamba J.F. and Irlinger F. (2004). Secondary and Adjunct Cultures. En *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*. Third edition. Edited by Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. and Guinee T.P. De. Elsevier Academic Press. Volume 1. General Aspects, pp. 191-206.
34. Choisi C., Desmazeaud M., Gripon J.C., Lamberet G. & Lenoir J. (1997). La Biochimie de l'affinage. En *Le Fromage*. Ed. A. Eck & J.C. Gillis. Lavoisier, Paris. pp. 86-161.
35. Choisy, C.; Desmazeaud, M.; Gripon, J. C.; Lamberet, G.; Lenoir, J. y Tourneur C. (1990). Los mecanismos generales de la transformación de la leche en queso. Los fenómenos microbiológicos y enzimáticos y la bioquímica del afinado: Los enzimas coagulantes. En *El Queso*. Coord. A. Eck. Ed. Omega, Barcelona (España). Parte I, Cap. 4, pp. 57-95.
36. Dalgleish D.G., Spagnuolo P.A., Douglas Goff H. (2004). A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal*. 14 (12), pp. 1025-1031.

37. De Kruif C.G. and Holt C. (2003). Casein micelle structure, functions and interactions. En *Advances Dairy Chemistry – 1 Proteins. Part A.* Fox P.F., McSweeney P.L.H. (Editors). Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. Chapter 5, pp. 233-276.
38. Dejmeck P. and Walstra P. (2004). The syneresis of Rennet-coagulated Curd. En *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology. Third edition.* Edited by Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. and Guinee T.P. De. Elsevier Academic Press. Volume 1. General Aspects, pp. 71-103.
39. Devine C.E., R. Graham Bell, S. Lovatt and B.B. Chrystall (1996). Red Meats. Freezing of meat. Moisture loss. En *Freezing effects on food quality.* L. E. Jeremiah (Editor). Marcel Dekker, Inc. New York, USA. Chapter 2, pp 51-84.
40. Dilanjan, S.Ch. (1970). Fundamentos de elaboración de queso. Capítulo 2: Aptitud de la leche para la fabricación de queso Editorial ACRIBIA. Zaragoza. España.
41. Farrell Jr. H. M., Malin E. L., Brown E. M., Qi P.X. (2006). Casein micelle structure: What can be learned from milk synthesis and structural biology? *Current Opinion in Colloid and Interface Science.* 11, pp. 135-147.
42. Ferrandini E. López, M. Laencina, J. Castillo, M. Roca, J. López, C. Rodriguez, M. (2007). Cuajos en pasta naturales en la industria quesera. Informe Técnico Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia, España, pp. 27-32.
43. Ferrandini E., Castillo M., López M.B., Laencina J. (2006). Estructura de la micela de caseína. *Anales de Veterinaria (Murcia).* 22, pp. 5-18.
44. Fox P.F, Law J, McSweeney P.L.H.; Wallace J. (1993) Biochemistry of cheese ripening. In: Fox P.F (ed) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.* 2nd Edition. Chapman & Hall, London. Vol 1, pp. 389–438.
45. Fox P.F. and McSweeney P.L.H. (1998). Milk proteins. En *Dairy Chemistry and Biochemistry.* First Edition. Ed. Blackie Academic & Professional, London, UK. Chapter 4, pp. 146-237.

46. Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. and McSweeney P.L.H. (2000). Biochemistry of Cheese Ripening. En *Fundamentals of Cheese Science*. Ed. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. Chapter 11, pp. 236-281.
47. Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. and McSweeney P.L.H. (2017). Microbiology of Cheese Ripening. En *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition. Ed. Springer New York., USA. Chapter 11, pp. 333-390.
48. Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. and McSweeney P.L.H. (2017a). Overview of Cheese Manufacture. En *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition. Ed. Springer New York. Chapter 2, pp. 11-25.
49. Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. and McSweeney P.L.H. (2017b). Bacteriology of Cheese Milk. En *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition. Ed. Springer New York. Chapter 5, pp. 105-119.
50. Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. and McSweeney P.L.H. (2017c). Salting of Cheese Curd. En *Fundamentals of Cheese Science*. Second Edition. Ed. Springer New York. Chapter 9, pp. 251-278.
51. Fox P.F., Uniacke-Lowe T., McSweeney P.L.H. and O'Mahony J. A. (2015). Chemistry and Biochemistry of Cheese. En *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Second Edition. Ed. Springer International Publishing Switzerland. Chapter 12, pp. 499-546.
52. Fox, P.F. (2011) Cheese Overview. En *Encyclopedia of Dairy Science*. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol. 1, pp. 534-543.
53. Fox, P.F. and McSweeney P.L.H. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Review International*. 12, pp. 457-509.
54. Galán E., Prados F., Pino A., Tejada L., Fernández-Salguero J. (2008). Influence of different amounts of vegetable coagulant from cardoon *Cynaracardunculus* and calf rennet on the proteolysis and sensory characteristics of cheeses made with sheep milk. *International Dairy Journal*. 18, pp. 93–98.

55. García V., Rovira S., Teruel R., Roa I., López M.B. (2011). Empleo de coagulantes vegetales en leche de cabra murciano-granadina. *Anales de veterinaria de Murcia*. 27, pp. 73-84.
56. Gauna Adrián. (2005) Elaboración de quesos de pasta semidura con ojos. Proyecto Mejora de la eficiencia y de la competitividad de la economía Argentina. Cuadernillo tecnológico N°3, pp. 45-47.
57. Gill C.O. (2006) Microbiology of frozen foods. En *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Part I Fundamentals of freezing*. Sun Da-Wen Editor. Taylor and Francis Group LLC., USA. Chapter 4, pp. 85-101.
58. Gösta Bylund. (2003a). La producción de leche. En *Manual de industrias lácteas*. Ed. Teknotext AB. Publisher Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Suecia. Capítulo 1, pp. 1-12.
59. Gösta Bylund. (2003b). Intercambiadores de calor. En *Manual de industrias lácteas*. Ed. Teknotext AB. Publisher Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Suecia. Capítulo 6.1, pp. 75-90.
60. Gösta Bylund. (2003c). Separadoras centrífugas y normalización de la grasa de la leche. En *Manual de industrias lácteas*. Ed. Teknotext AB. Publisher Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Suecia. Capítulo 6.2, pp. 91-114.
61. Gösta Bylund. (2003d). El queso. En *Manual de industrias lácteas*. Ed. Teknotext AB. Publisher Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Suecia. Capítulo 14, pp. 287-330.
62. Grille L, Carro S., Escobar D., Fros C., Cousillas G., Lazzarini F., Borges A., Gonzalez S. (2013). Efecto de la congelación de leche caprina sobre la estabilidad oxidativa, calidad higiénico-sanitaria y de composición en un rebaño de la raza Saanen. En *Revista del laboratorio tecnológico del Uruguay. Innotec 2013– ISSN 1688-3691*. 8, pp. 60-66.
63. Gripon J.C., Desmazeaud M.J., Le Bars D. et Bergere J. (1975). Etude du rol des microorganismes et des enzymes su cours de la maturation des fromages. II: Influence des pressure commerciale. *Le Lait*. 55, pp. 502-516.

64. Guinee T.P. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*. Vol 57, N° 2/3.
65. Guinee T.P. and Sutherland B.J. (2011). Salting of Cheese. En *Encyclopedia of Dairy Science*. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol. 1, pp. 595-606.
66. Harboe M., Andersen P.M., Foltmann B. (1974). The activation of Bovine Pepsinogen. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 249, No. 14, pp. 4487-449.
67. Hardy J. (1990). La actividad de agua y el salado de los quesos. En *El Queso*. Coord. A. Eck. Ed. Omega, Barcelona, España. Parte I, Capítulo 3, pp. 35-54.
68. Heldman D.R. and Hartel R.W. (1998). Freezing and frozen-food storage. En *Principles of Food Processing*. Aspen Publishers. Inc. Gaithersburg, Maryland. Chapter 6, pp. 113-137.
69. Hofmann, T. (1974). Structure, Function, and Evolution of Acid Proteases. En *Food Related Enzymes*. Edited by D. R. Whitaker. Published by American Chemical Society, Washington D. C.
70. Holt, C. (1992). Structure and stability of bovine casein micelles. *Advances in Protein Chemistry*. 43, pp. 63–151.
71. Holt, C. (1994). The biological function of casein. *Yearbook 1994*. The Hannah Institute, Ayr, Scotland, pp. 60–68.
72. Holt, C. (1998). Casein micelle substructure and calcium phosphate interactions studied by Sephacryl column chromatography. *Journal of Dairy Science*. 81, pp. 2994–3003.
73. Horne D. S. (1998). Casein interactions: Casting light on the black boxes, the structure in dairy products. *International Dairy Journal*. 8, pp. 171-177.
74. Horne D.S. (2006). Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 11, pp. 148 – 153.

-
75. Horne D.S. (2011). Casein, Micellar Structure. En Encyclopedia of Dairy Science. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol 3, pp. 772-778.
 76. Horne D.S. (2011). Casein, Micellar Structure. En Encyclopedia of Dairy Science. 2° Edition. Ed. Elsevier Academic Press London, England. Vol. 3, pp. 372-379.
 77. Hui Y.H., Lim Miang-Hoog, Nip Wai-Kit, Smith J. Scott and Yu P.H.F. (2004). Principles of Food Processing. En Food Processing Principles and Applications. Ed. J. Scott Smith and Y. H. Hui. Blackwell Publishing. Part 1, pp. 3-32.
 78. Hynes, E., Meinardi, D., Sabbag, N., Cattaneo, T., Candiotti, C., Zalazar, C. (2001). Influence of milk clotting enzyme concentration on the α s1 casein hydrolysis during soft cheese ripening. Journal of Dairy Science. 84, pp. 1335-1340.
 79. Hynes, E.; Delacroix-Buchet, A.; Meinardi, C. and Zalazar, C. (1999). Relation between pH, degree of proteolysis and consistency in soft cheeses. The Australian Journal of Dairy Technology. 54, pp. 4-27.
 80. Izco J. M. and Torre P. (2000). Characterization of volatile flavor compounds in Roncal cheese extracted by the “purge and trap” method and analyzed by GC–MS. Food Chemistry. 70, pp. 409–417.
 81. Jiang Sham-Tzong and Lee Tung-Ching (2004). Freezing Seafood and Seafood products: Principles and Applications. En Handbook of Frozen Foods. Hui Y.H., Cormillon P., Guerrero Legaretta I., Lim M.H., Murrell K.D. (Editors). Marcel Dekker Inc. New York, USA. Part IV, pp. 245-394.
 82. Jordan K.N. and Cogan T.M. (1999). Heat resistance of *Lactobacillus* spp. isolated from Cheddar cheese. Letters in Applied Microbiology. 29, pp. 136-140.
 83. Kappeler S.R., Van den Brink H.J.M., Rahbek-Nielsen H., Farah Z., Puhan Z., Hansen E.G., Johansen E. (2006). Characterization of recombinant camel chymosin reveals superior properties for the coagulation of bovine and camel milk. Biochemical and Biophysical Research Communications. 34, pp. 647–654.

84. Knoop A. M., Knoop E., Wiechen A. (1973). Electron microscopical investigations on the structure of the casein micelles. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 27, pp. 121-127.
85. Larráyoz P., Addis M., Gauch R., and Bosset J.O. (2001). Comparison of dynamic headspace and simultaneous distillation extraction techniques used for the analysis of the volatile components in the three European PDO ewes milk cheeses. *International Dairy Journal*. 11, pp. 911–926.
86. Lavanchy P., Bérodiér F., Zannoni M., Noel Y., Adamo C., Squella., J., Herrero L. (1994). *Guide D'Évaluation Sensorielle de la Texture des fromages a pâte dure ou semidure*, INRA, 1994. (AIR–CT 94–2039).
87. Lawrence A.J. (1959). Syneresis of rennet curd. Part 2. Effect of stirring and the volume of whey. *Australian Journal of Dairy Technology*. 14, pp. 169–172.
88. Lucey JA, Mishra R, Hassan A, Johnson ME (2005). Rheological and calcium equilibrium changes during the ripening of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*. 1, pp. 645–653.
89. Marilley L. and Casey M.G. (2004). Flavors of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*. 90, pp. 139–159.
90. Martínez-Castro I., Sanz J., Amigo, L. Ramos M., and Martín-Álvarez, P. (1991). Volatile components of Manchego cheese. *Journal of Dairy Research*. 58, pp. 236–239.
91. Mazorra-Manzano M.A., Perea-Gutiérrez T.C., Lugo-Sánchez M.E., Ramírez-Suárez J.C., Torres-Llanez M.J., González-Córdova A.F., Vallejo-Córdoba B. (2013). Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts. *Food Chemistry*. 141 (3), pp. 1902-1907.
92. McSweeney P.L.H (2003). *Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview*. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Third edition – Volume 1: General Aspects. Chapter. 14.1, pp. 347-360.

93. McSweeney P.L.H and Fox P.F. (2003). Metabolism of Residual Lactose and of Lactate and Citrate. En *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Third edition – Vol. 1: General Aspects. Chapter 14.2, pp. 361-371.
94. McSweeney, P.L.H., Fox, P. F., Lucey, J. A., Jordan, K. N. and Cogan, T. M. (1993). Contribution of the indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*. 3, pp. 613–634.
95. Meinardi, C.A.; Zalazar, C.A.; Ceresoli, A.E.; Candioti, M.C. (2004/05). Recuperación de la aptitud a la coagulación de leches tratadas térmicamente para incrementar el rendimiento quesero. *Revista Argentina de Lactología*. N° 23, pp. 67-75.
96. Melilli C., Barbano D.M., Caccamo M., Tuminello L., Carpino S., Licitra G. (2006). Interaction of Brine Concentration, Brine Temperature, and Presalting on Salt Penetration in Ragusano Cheese. *Journal of Dairy Science*. 89 (5), pp. 1420-1438.
97. Melilli C., Barbano D.M., Manenti M., Lynch J.M., Carpino S. and Licitra G. (2004). Lipolysis and Proteolysis in Ragusano Cheese during Brine Salting at Different Temperatures. *Journal of Dairy Science*. 87, pp. 2359–2374.
98. Méndez-Lagunas L.L., Rodríguez-Ramírez J., García-Cortes M.Y. (2008). Variaciones del contenido de humedad por efecto de congelado a temperaturas de criogenia. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 7, No. 2, pp. 139-144.
99. Mendía, C., Ibañez, F. C., Torre, P., & Barcina, Y. (1999). Effect of pasteurization on the sensory characteristics of a ewes-milk cheese. *Journal of Sensory Studies*. 14, pp. 415–424.
100. Mintilla A., Balcones E., Olano A. and Calvo N.N. (1995). Influence of heat treatments on whey protein denaturation and rennet clotting properties of cow's and goat's milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 (7), pp. 1908-1911.
101. Montero H., Aranibar G.F., Cañameras C., Castañeda R. (2005). Metodología para la caracterización sensorial de quesos Argentinos. INTI Lácteos. Trabajo presentado en las Jornadas de Análisis Sensorial. Tendencias actuales y aplicaciones “JASLIS 2005” 6 al 8 de septiembre 2005. Buenos Aires, Argentina.

102. Moschopoulou E, (2011). Characteristics of rennet and other enzymes from small ruminants used in cheese production. *Small Ruminant Research*. 101, pp. 188-195.
103. Mulet A., Escriche I., Rossello C., and Tarrazó J. (1999). Changes in the volatile fraction during ripening of Mahón cheese. *Food Chemistry*. 65, pp. 219–225.
104. Nolivos Carchi, M.R. (2011). Uso de cuajo vegetal (leche de higo verde - ficus caricalinnaeus) para la elaboración de queso fresco. Trabajo de Investigación. (Graduación) Modalidad: Seminario de Graduación. Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ecuador.
105. O'Mahony J.A., Lucey J.A., McSweeney P.L.H. (2005). Chymosin-mediated proteolysis, calcium solubilization, and texture development during the ripening of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. 88, pp. 3101–3114.
106. Oliszewski R., Wolf I.V., Bergamini C.V., Candiotti M.C. and Perotti M.C. (2013). Influence of autochthonous adjunct cultures on ripening parameters of Argentinean goat's milk cheeses. *Journal of Science Food Agriculture*. 9, pp. 2730–2742.
107. Ordiales Rey E. (2013). Caracterización del cardo (*Cynaracardunculus*) para su uso como cuajo vegetal en el proceso de elaboración de la Torta del Casar. Trabajo de Tesis. Universidad de Extremadura – España.
108. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2013). Milk and dairy product composition. En *Milk and Dairy products in human nutrition*. E-ISBN 978-92-5-107864-8 (PDF). Roma. Chapter 3, pp. 41-102.
109. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Ganadería. En FAOSTAT. (2010). Recuperado en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QA/visualize>
110. Parente E. and Cogan T.M. (2004). Starter Cultures: General Aspects. En *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*. Third edition. Edited by Fox P.F., McSweeney P.L.H., Cogan T.M. and Guinee T.P. De Elsevier Academic Press. Volume 1. General Aspects, pp. 123-147.

-
111. Park Y.W., Drake M.A. (2005). Effect of 3 months frozen-storage on organic contents and sensory properties, and their correlations in soft goat milk cheese. *Small Ruminant Research*. 58, pp. 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.12.001>
 112. Park Y.W., Kalanatari A., Frank J.F. (2004). Changes in the microflora of commercial soft goat milk cheese during refrigerated and frozen-storage. *Small Ruminant Research*. 53, pp. 61-66.
 113. Perotti M.C., Bernal S.B., Meinardi C.A., Candiotti M.C., and Zalazar C.A. (2004). Substitution of natural whey starter by mixed strains of *Lactobacillus helveticus* in the production of Reggianito Argentino cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 57 (1), pp. 45-51.
 114. PlaNet Finance (2011). Caracterización del sector caprino en Argentina. Recuperado en:
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj6pOvHi5reAhVnx1kKHbKMC2kQFjAAegQIChAC&url=http%3A%2F%2Fwww.alimentosargentinos.gob.ar%2Fcontenido%2Fprocal%2Festudios%2F04_Caprino%2FSectorCaprino_Argentina.pdf&usg=AOvVaw2awxVVBMAXe4pgHHzkkGoN.
 115. Prados F., Pino A., Rincón F., Vioque M., Fernández-Salguero J. (2006). Influence of the frozen storage on some characteristics of ripened Manchego-type cheese manufactured with a powdered vegetable coagulant and rennet. *Food Chemistry*. 95, pp. 677–682.
 116. Quijano Velazco J.D. (2010). “Quimosinas”. Ed. ReCiTeIA. Cali, Valle, Colombia.
 117. Reinheimer J.A., Zalazar C. (2006). Avances en microbiología, bioquímica y tecnología de quesos. 1º Edición. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. 336 pp. ISBN 987-508-759-9
 118. Reinheimer J.A. (1994). Las bacterias lácticas. En *Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos*. CERIDE, Santa Fe, Argentina. Ed. Diagramma. Medios Audiovisuales y Gráfico. CERIDE. Santa Fe, Argentina. pp. 64-113.
-

119. Reinheimer J.A., Candiotti M.C., Zalazar C.A., Demkow M.R (1988). Inibizione dei batteri coliformi con colture commerciale di *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*. 39 (5), pp. 349-366.
120. Reinheimer J.A., Demkow M.R. and Candiotti M.C. (1990). Inhibition of coliform bacteria by lactic cultures. *The Australian Journal of Dairy Technology*. 45 (1), pp. 5-9.
121. Richardson C.W. (2004). Let's learn about dairy goats and goat's milk. Oklahoma Cooperative Extensión Service. Oklahoma State University. Bulletin N° 424.
122. Sanz Ceballos L., Ramos Morales E., Pérez Martínez L., Sanz Sampelayo M. R., Gil Extremera F., Boza López J. (2008). ¿Puede considerarse diferente la calidad de la proteína y grasa de la leche de cabra y vaca? *Anales*. Vol. 21. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental.
123. Sanz Sampelayo M.R, Fernandez J.R., De la Torre G., Ramos E., Carmona F.D., Boza J. (2003). Calidad de la leche de los pequeños rumiantes. *Anales*. Vol. 16. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental.
124. Scott R. (1991). Fabricación de queso. Ed. Acribia S.A, Zaragoza España.
125. Schmidt D. G. (1982). Association of caseins and casein micelle structure. In P. F. Fox (Ed.), *Developments in dairy chemistry (Proteins)*. London, UK: Applied Science. Vol. 1, pp. 61–86.
126. Schmidt D. G. and Van Markwijk B. W. (1993). Enzymatic hydrolysis of whey proteins. Influence of heat treatment of α -lactoalbumin and β -lactoglobulin on their proteolysis by pepsin and papain. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 47, pp. 15-22.
127. Sendra Nadal, E. (1995). Congelación de cuajadas de leche de oveja. Memoria presentada para optar al grado de Doctor. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultat de Veterinària, Unitat de Tecnologia dels Aliments.
128. Sheehan J.J. and Guinee T. (2004). Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal*. 14, pp. 161-172.

129. Sousa M.J., Ardö Y., McSweeney P.L.H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*. 11, pp. 327–345.
130. Speck M.L. and Ray B. (1977). Effects of Freezing and Storage on Microorganisms in Frozen Foods: A Review. *Journal of Food Protection*. Vol. 40. N° 5, pp. 333-336.
131. Spreer E. (1998a). Milk Processing. En *Milk and Dairy Product Technology*. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. Chapter 4, pp. 71-132.
132. Spreer E. (1998b). Cheese Manufacture. En *Milk and Dairy Product Technology*. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. Chapter 7, pp. 245-337.
133. Steffl A., Schreiber R., Hafenmair M. and Kessler H.G. (1999). Effect of denatured whey proteins on the rennet-induced aggregation of casein micelles. *International Dairy Journal*. 9, pp. 401-402.
134. Swaisgood H.E. (2003). Chemistry of caseins. En *Advances Dairy Chemistry – 1 Proteins*. Part A. Fox P.F., McSweeney P.L.H. (Editors). Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. Chapter 3, pp. 139-201.
135. Tabeada, N. (2014). Tesis para Doctorado en Ciencias y Tecnología de Alimentos: Orientación Ciencias. “Quesos caprinos de pasta semidura elaborados con cultivos iniciadores y adjuntos diseñados con bacterias lácticas autóctonas. Valoración del perfil de los ácidos grasos totales con énfasis en ácido linoleico conjugado (CLA) y caracterización sensorial”. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
136. Tarchini M.E., Meinardi C.A. y Zalazar C.A. (1997). Estudio lactodinamográfico de la performance de diversas enzimas coagulantes de leche. *Revista Argentina de Lactología*. Editorial: Centro de Publicaciones Universidad Nacional del Litoral. ISSN: 0327-5418. 15, pp. 35-46.
137. Trezeguet, M. (2010a). Origen de la cabra y su distribución. En *Producción caprina*. 1ª Edición. Ed. Allignani. Bs. As., Argentina. Capítulo 1.1. pp. 4-15.
138. Trezeguet, M. (2010b). Producción de leche. En *Producción caprina*. 1ª Edición. Ed. Allignani. Bs. As., Argentina. Capítulo 7.6. pp. 228-232.

139. Van den Bijgaart H.J.C.M. (1988). Syneresis of Rennet-Induced Milk Gels as Influenced by Cheese-making Parameters. Doctoral Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen.
140. Van Hekken D.L., Tunick M.H., Park Y.W. (2005). Effect of frozen storage on the proteolytic and rheological properties of soft caprine milk cheese. En *Journal Dairy Science*. Vol 88, Issue 6, pp. 1966-1972.
141. Villaseñor M.J., Valero E., Sanz J., and Martínez-Castro I. (2000). Analysis of volatile components of Manchego cheese by dynamic headspace followed by atomic thermal desorption-GC-MS. *Milkwissenschaft*. 55, pp. 378-382.
142. Virto M., Chavarri F., Bustamante M.A., Barron L.J.R., Aramburu M., Vicente M.S., Pérez-Elortondo F.J., Albisu M., de Renobales M. (2003). Lamb rennet paste in ovine cheese manufacture. Lipolysis and flavor. *International Dairy Journal*. 13, pp. 391-399.
143. Visser F.M.W. and de Groot-Mostert A.E.A. (1977). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavor development in Gouda cheese. 4. Protein breakdown: A gel electrophoretical study. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 31, pp. 247-264.
144. Visser S. (1993). Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor: An overview. *Journal of Dairy Science*. 76, pp. 329-350.
145. Walstra P., Wouters J.T.M. and Geurts T.J. (2006a). Milk: Main Characteristics. En *Dairy Science and Technology*. Ed. Taylor & Francis Group, LLC. Chapter 1, pp 3-16.
146. Walstra P., Wouters J.T.M. and Geurts T.J. (2006b). Milk Components. En *Dairy Science and Technology*. Ed. Taylor & Francis Group, LLC. Chapter 2, pp 17-108.
147. Walstra P., Wouters J.T.M. and Geurts T.J. (2006c). Colloidal Particles of Milk. En *Dairy Science and Technology*. Ed. Taylor & Francis Group, LLC. Chapter 3, pp 109-158.

148. Walstra P., Wouters J.T.M., Geurts T.J. (2006d). Cheese Manufacture. En Dairy Science and Technology. Second Edition. Ed. Taylor & Francis Group, LLC. USA. Chapter 24, pp. 583-638.
149. Wolf I. V., Perotti M. C. Zalazar C. A. (2011). Composition and volatile profiles of commercial Argentinean blue cheeses. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91 (2), pp. 385-393.
150. Wolf I.V., Meinardi C.A. and Zalazar C.A. (2009). Production of flavor compounds from fat during cheese ripening by action of lipases and esterase's. Protein & Peptide Letters. 16, pp. 1235-1246.
151. Zalazar C.A., Meinardi C.A., Hynes E. (1999). Los quesos Argentinos. En Quesos típicos argentinos. Una revisión general sobre producción y características. Cap. 3. Centro de Publicaciones, Universidad Nacional del Litoral, pp. 20-49.
152. Zalazar C.A., Meinardi C.A., Hynes E. and Bernal S.M. (1997). Performance of fermentation produced Chymosin and other milk-clotting enzymes in the elaboration of Cremoso Argentino cheese. Microbiologie-Aliments-Nutrition. Editorial: I.E.E.N.A. ISSN 0759-0644. 15, pp. 333-338.
153. Zalazar, C.; Meinardi, C.; Candiotti, M. (1994). The effect of microbial proteases on Pategras cheese ripening. Microbiologie-Aliments-Nutrition. 12, pp. 295-301.
154. Zalazar, C.A. (1994). Coagulación de la leche y enzimas coagulantes. En Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos. Ed. Diagramma. Medios Audiovisuales y Gráfico. CERIDE. Santa Fe, Argentina. pp. 39-63.
155. Zamboni E.F. (1994). Salado de quesos. En Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos. Ed. Diagramma. Medios Audiovisuales y Gráfico. CERIDE. Santa Fe, Argentina. pp. 157-176.