



**UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA**

**ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA DE MASA EN EL
SALADO EN SECO DE QUESO DE CABRA Y SUS
IMPLICACIONES DURANTE LA MADURACIÓN**

Presentada por:

Julia Eleonora Santapaola

Dirigida por:


Dra. Ana María Andrés Grau


Dra. Marta Silvina Maldonado

Valencia, Noviembre de 2015


Agradecimientos


A todas las personas que de una u otra manera aportaron su granito de arena para que este trabajo fuera posible. Pero en especial a:


 Mis directoras, Silvina y Ana, que han confiado en mí durante los años que ha durado el presente trabajo.


 Mi querida colega y amiga Maia por su inestimable ayuda y el constante estímulo recibido. Pieza imprescindible en el desarrollo de la tesis.


 La Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy y la Facultad de Ciencias de la Alimentación de la Universidad Nacional de Entre Ríos.

 María, Estela y Mariana, por su ayuda, ánimo y amistad.

 Mis suegros, hermanos y tíos por creer en mí y estar siempre presentes.

 Mis amigas, Juliana, Mariana, Vanina, Adriana, Paola, Valeria, Verónica, gracias por su amistad desde que éramos niñas.

 A José Luis, excelente compañero, por su gran interés y ayuda en el área de matemática.

 Mis compañeros del laboratorio, Laura, Andrea, Roberto, Patricia, Silvia, Nadia y Viviana, sin su colaboración todo hubiese sido más difícil.

A mis padres, por su amor incondicional.
A mi esposo, que me apoya y acompaña en todo momento.
A Tomás y Ana Lucía, mis hijos, por su amor y aliento.
A Dios, por haberme dado la familia que tengo.



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Dra. ANA MARÍA ANDRÉS GRAU, PROFESORA DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y DIRECTORA DEL INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA, y Dra. MARTA SILVINA MALDONADO, PROFESORA DE LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE JUJUY Y DIRECTORA DEL LABORATORIO DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO DE LA AGROINDUSTRIA REGIONAL,

CONSIDERAN: que la memoria titulada **ESTUDIO DE LA TRANSFERENCIA DE MASA EN EL SALADO EN SECO DE QUESO DE CABRA Y SUS IMPLICACIONES DURANTE LA MADURACIÓN** que presenta **D.^a JULIA ELEONORA SANTAPAOLA**, para aspirar al grado de Doctora por la Universidad Politécnica de Valencia y que ha sido realizado bajo su dirección en el Laboratorio de Ingeniería para el Desarrollo de la Agroindustria Regional de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy, reúne las condiciones adecuadas para constituir su tesis doctoral, por lo que **AUTORIZAN** a la interesada para su presentación.

Valencia, Octubre de 2015

Fdo. : Dra. Ana M^a Andrés Grau

Fdo. : Dra. Marta Silvana Maldonado
Directoras de la tesis doctoral

RESUMEN

El queso de cabra que tradicionalmente se elabora en la provincia de Jujuy en la mayoría de los casos se sala por la incorporación en seco de la sal, ya sea por mezcla con la masa de cuajada, por agregado de sal sobre su superficie o por la incorporación de sal entre capas de cuajada de altura constante, durante la operación de moldeado.

Se desconoce la distribución de sal y agua en estos quesos de cabra, su evolución durante la maduración y la influencia de estos métodos de salado sobre las características fisicoquímicas.

El objetivo de esta tesis es conocer la evolución de estos perfiles de concentración durante el proceso de maduración y su influencia en el desarrollo de algunas propiedades fisicoquímicas con el propósito de plantear mejoras útiles para la producción de este tipo de quesos de cabra, y ayudar a las comunidades rurales a incrementar la calidad final de sus productos.

En primer lugar se planteó un estudio para la determinación del coeficiente de difusión de NaCl durante los procesos de salado en seco de queso de cabra. Se determinaron experimentalmente los perfiles de sal y agua y su evolución con el tiempo y se estimó el coeficiente efectivo de difusión (D_{eff}) aplicando la solución a la ecuación de Fick para un cuerpo semi-infinito. Después de 24 horas de salado se encontraron mayores concentraciones de NaCl en la interfase de contacto entre la cuajada y la sal, disminuyendo hacia las posiciones internas de la muestra. Adicionalmente, se encontró que el D_{eff} no es constante y disminuye significativamente con el tiempo de salado, por lo que la concentración de NaCl estimada considerando D_{eff} constante, conduce a errores de predicción considerables.

Los perfiles de agua y sal que se desarrollan durante la etapa de salado de quesos continúan su evolución durante el proceso de maduración. Así pues, se consideró de interés analizar la evolución de estos perfiles durante cuatro semanas de maduración en quesos de cabra salado seco superficialmente, aplicando la metodología de análisis de superficie de respuesta para su interpretación. En base a los modelos predictivos obtenidos, la concentración de equilibrio de NaCl se alcanzaría a los 35 días de maduración.

Adicionalmente, se planteó estudiar la distribución de NaCl y agua en quesos de cabra salados por mezcla de sal seca en cuajada molida y su evolución durante 4 semanas. Se encontró que en este tipo de salado los gradientes de concentración de agua y sal no tienen un perfil de dirección homogéneo, ya que depende de las concentraciones locales de cada porción dentro de la masa del queso. Esto beneficia el secado superficial del queso ya que los gradientes de concentración de NaCl no favorecen la difusión de agua

hacia el exterior, por lo que el film de envasado se convierte en una importante variable tecnológica a tener en cuenta para este tipo de salado, ya que regula la transferencia de agua entre el queso y el ambiente durante la maduración.

La identificación y separación de α -caseína, β -caseína y κ -caseína en los quesos de cabra por HPLC-UV en fase reversa fue optimizada y validada. Se lograron identificar las fracciones caseínicas por comparación con los tiempos de retención de los estándares y utilizando bibliografía específica. De estas observaciones se concluyó que las fracciones de caseínas eluyen en el orden: para κ -caseína, α_{s2} -caseína, α_{s1} -caseína y β -caseína. Se evaluó además la precisión del método analítico y del método de extracción. Esta metodología se utilizó para el seguimiento de la evolución de la proteólisis de caseínas en quesos de cabra salados en seco (aplicado en masa o en superficie) durante 28 días de maduración. En general, en los quesos de cabra salados en seco se produjo una ligera degradación de las caseínas durante el período de maduración estudiado. Se observó que la α_{s1} -caseína fue la fracción que mayor degradación sufrió durante ese período, pero sólo en aquellos quesos cuya proporción inicial fue alrededor del 5% con respecto al total de caseína. La mayor degradación de esta fracción ocurre en el transcurso del primer día de maduración. Las otras fracciones se mantuvieron con una baja degradación, salvo para la β_1 -caseína en los quesos salados superficialmente, en donde se encontró una degradación de casi el 45%.

Finalmente, se caracterizó también el perfil de ácidos grasos de los quesos de cabra salados en seco. Mientras que el tiempo de maduración no influyó significativamente en el perfil de ácidos grasos, el método de salado afectó en la mayoría de los ácidos grasos identificados. Los ácidos grasos encontrados en mayor proporción fueron los ácidos palmítico, oleico (*cis* 9) y esteárico. Los quesos salados superficialmente presentaron una mayor proporción de ácidos grasos de cadena corta y media así como también de ácidos grasos saturados. Sin embargo, los quesos salados en masa presentaron una mayor proporción de ácidos grasos de cadena larga así como también de ácidos grasos insaturados. La relación ácidos grasos ω_6/ω_3 no se vio significativamente afectada por el método de salado, ni tampoco la concentración en ácido linoleico conjugado (CLA). Los resultados obtenidos en este trabajo permitirían afirmar que en base a algunos de los índices nutricionales, estos quesos resultan adecuados desde una perspectiva asociada a la salud de los potenciales consumidores.

RESUM

El formatge de cabra que tradicionalment s'elabora a la província de Jujuy en la majoria dels casos se sala per la incorporació en sec de la sal, ja siga per mescla amb la massa de quallada, per agregat de la sal sobre la seua superfície o per la incorporació de sal entre capes de quallada de altura constant durant la operació de l'emmotlament.

Es desconeix la distribució de sal i aigua en aquests formatges de cabra, la seua evolució durant la maduració i la influència d'estos mètodes de salat sobre les característiques fisicoquímiques.

L'objectiu d'esta tesi es conèixer la evolució d'estos perfils de concentració durant el procés de maduració i la seua influencia en el desenvolupament d'algunes propietats fisicoquímiques amb el propòsit de plantejar millores útils per a la producció d'este tipus de formatges de cabra, i ajudar a les comunitats rurals a incrementar la qualitat final dels seus productes.

En primer lloc es va plantejar un estudi per a la determinació del coeficient de difusió de NaCl durant els processos de salat en sec de formatge de cabra. Es van determinar experimentalment els perfils de sal i aigua i la seua evolució amb el temps i es va estimar el coeficient efectiu de difusió (D_{eff}) aplicant la solució a la equació de Fick per a un cos semi-infinit. Després de 24 hores de salat es van trobar majors concentracions de NaCl en la interfase de contacte entre la quallada i la sal, disminuint cap a les posicions internes de la mostra. Addicionalment es va obtenir que el D_{eff} no es constant i disminueix significativament amb el temps de salat, pel que la concentració de NaCl estimada considerant D_{eff} constant, condueix a errors de predicció considerables.

Els perfils d'aigua i sal que es desenvolupen durant la etapa de salat de formatges continuen la seua evolució durant el procés de maduració. Així doncs, es va considerar d'interès analitzar l'evolució d'estos perfils durant quatre setmanes de maduració en formatges de cabra salt sec superficialment, aplicant la metodologia d'anàlisi de superfície de resposta per a la seua interpretació. En base als models predictius obtinguts, la concentració de equilibri de NaCl s'aconseguiria als 35 dies de maduració.

Addicionalment, es va plantejar estudiar la distribució de NaCl i aigua en formatges de cabra salats per mescla de sal seca en quallada molta i la seua evolució durant 4 setmanes. Es va trobar que en aquest tipus de salat els gradients de concentració d'aigua i sal no tenen un perfil de direcció homogeni, ja que depèn de les concentracions locals de cada posició dins de la massa del formatge. Açò beneficia l'assecat superficial del formatge ja que els gradients de concentració de NaCl no afavoreixen la difusió d'aigua cap a l'exterior, pel que el film d'envasat es converteix en una important variable tecnològica a

tenir en compte per a aquest tipus de salat, ja que regula la transferència d'aigua entre el formatge i l'ambient durant la maduració.

La identificació i separació d' α -caseïna, β -caseïna i κ -caseïna en els formatges de cabra per HPLC-UV en fase reversa va ser optimitzada i validada. Es van aconseguir identificar les fraccions caseïniques per comparació amb els temps de retenció dels estàndards i utilitzant bibliografia específica. D'aquestes observacions es va concloure que les fraccions de caseïnes elueixen en l'ordre: κ -caseïna, α_{s2} -caseïna, α_{s1} -caseïna i β -caseïna. Es va avaluar a més a més la precisió del model analític i del mètode d'extracció. Esta metodologia es va utilitzar per al seguiment de la evolució de la proteòlisi de caseïnes en formatges de cabra salats en sec (aplicat a massa o superfície) durant 28 dies de maduració. En general, en els formatges de cabra salats en sec es va produir una lleugera degradació de les caseïnes durant el període de maduració estudiat. Es va observar que la α_{s1} -caseïna va ser la fracció que major degradació va patir durant eixe període, però solament en aquells formatges la proporció inicial dels quals va ser en torn al 5% respecte al total de caseïna. La major degradació d'esta fracció ocorre en el transcurs del primer dia de maduració. La resta de fraccions es van mantenir amb una baixa degradació, excepte la β_1 - caseïna en els formatges salats superficialment, en els quals es va trobar una degradació de quasi el 45%.

Finalment, es va caracteritzar també el perfil d'àcids grassos dels formatges de cabra salats en sec. Malgrat que el temps de maduració no va influir significativament en el perfil d'àcids grassos, el mètode de salat va afectar a la majoria dels àcids grassos identificats. Els àcids grassos trobats en major proporció van ser els àcids palmític, oleic (*cis* 9) i esteàric. Els formatges salats superficialment van presentar una major proporció d'àcids grassos de cadena curta i mitja així com també d'àcids grassos saturats. No obstant això, els formatges salats en massa van presentar una major proporció d'àcids grassos de cadena llarga així com també d'àcids grassos insaturats. La relació d'àcids grassos ω_6/ω_3 no es va veure significativament afectada pel mètode de salat, ni tampoc la concentració en àcid linoleic conjugat (CLA). Els resultats obtinguts en este treball permetrien afirmar que en base a alguns dels índexs nutricionals, estos formatges resulten adequats des d'una perspectiva associada a la salut dels potencials consumidors.

ABSTRACT

The goat cheese traditionally produced in the province of Jujuy in most cases is salted by incorporating dry salt, either mixed with curd mass, by adding salt on its surface or by incorporating salt between layers of curd constant height during the molding operation.

The distribution of salt and water in these goat cheeses, its evolution during ripening and the influence of these methods of salting on the physicochemical characteristics are unknown.

The objective of this thesis is to know the evolution of these concentration profiles during the ripening process and its influence on the development of some physicochemical properties with the purpose of set out useful improvements for the production of this type of goat cheese, and help rural communities to increase the quality of its products.

First, a study to determine the diffusion coefficient of NaCl during the process of goat cheese dry salting was performed. Profiles of salt and water and its evolution over time were experimentally determined and the effective diffusion coefficient (D_{eff}) was estimated by applying the solution to Fick's equation for the geometry of a semi-infinite body. After 24 hours of salting NaCl concentrations greater were found in the contact interface between the curd and salt, decreasing towards internal positions of the sample. Additionally was found that D_{eff} is not constant and decreases significantly with salting time, so that the NaCl concentration estimated considering D_{eff} constant, leads to considerable prediction errors.

The profiles of water and salt that develop during the stage of salting cheeses continue its evolution during the ripening process. Therefore, it was considered of interest to analyze the evolution of these profiles for four weeks ripening in surface dry salting goat cheese, applying the methodology of response surface analysis for interpretation. Based on the obtained predictive models, the equilibrium concentration of NaCl would be reached within 35 days of ripening.

Additionally, it was proposed to study the distribution of NaCl and water in dry salting goat cheese by direct addition and mixing of dry salt crystals to broken or milled curd pieces and its evolution over 4 weeks. It was found that in this type of salting, concentration gradients of salt and water do not have a uniform profile direction, since it depends on the local concentrations of each portion in the cheese mass. This benefits the cheese surface drying as the NaCl concentration gradients do not favor the diffusion of water to the outside, so the film packaging becomes an important technological variable to consider for this type of salting, because regulates the transfer of water between the cheese and the atmosphere during ripening.

The identification and separation of α -casein, β -casein and κ -casein in goat cheeses by HPLC-UV reverse phase was optimized and validated. They were identified by comparison with retention times of standards and using specific paper. From these observations, it was concluded that casein fractions eluted in the order for κ -casein, α_{s2} -casein, α_{s1} -casein and β -casein. The accuracy of the analytical method and the method of extraction is also evaluated. This methodology was used for monitoring the evolution of proteolysis of casein in goat cheese dry salting (applied in milled curd or surface) for 28 days of ripening. In general, dry salting goat cheeses there was a slight degradation of caseins during ripening period studied. It was observed that the α_{s1} -casein fraction was greater degradation showed that during this period, but only in those cheeses whose initial ratio was about 5% to the total casein. Most of this fraction degradation occurs within the first day of ripening. The other fractions showed at a low degradation, except for β_1 -casein in cheeses surface dry salting, where a degradation of almost 45% was found.

Finally, it was characterized fatty acid profile of goat cheeses dry salting. While ripening time did not significantly influence in the profile of fatty acids, salting method affected in most of the identified fatty acids. The fatty acids found in greater proportion were palmitic, oleic (cis 9) and stearic acid. Surface dry salting cheeses had a higher proportion of fatty acids of short and medium chain as well as saturated fatty acids. However, the dry salting cheese by applied of salt in milled curd had a higher proportion of long chain fatty acids as well as unsaturated fatty acids. The relationship ω_6/ω_3 fatty acid is not significantly affected by the salting method, nor does concentration in conjugated linoleic acid (CLA). The results obtained in this study would enable to affirm based on some nutritional indices, that these cheeses are suitable from a health-related perspective of potential consumers.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO	2
I.2. OBJETIVO GENERAL	4
I.2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
I.3. ESTRUCTURA DE LA TESIS	4
I.4. ANTECEDENTES SOBRE LA TEMATICA DE ESTUDIO	5
I.4.1. PRODUCCIÓN CAPRINA EN LA PROVINCIA DE JUJUY	5
I.4.1.1. AGREGADO DE VALOR EN AGROINDUSTRIAS RURALES	8
I.4.2. EL QUESO DE CABRA REGIONAL	9
I.4.3. EL SALADO EN LOS QUESOS	11
I.4.3.1. PROCESO DE DIFUSIÓN	12
I.4.3.2. SALADO EN MASA	14
I.4.3.3. SALADO SUPERFICIAL	16
I.4.4. EL PROCESO DE MADURACIÓN	17
I.5. BIBLIOGRAFIA	21
II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO DE QUESO DE CABRA	35
II.1. RESUMEN	36
II.2. INTRODUCCIÓN	36
II.3. MATERIALES Y MÉTODOS	38
II.3.1. ELABORACIÓN DEL CULTIVO LÁCTEO	38
II.3.2. ELABORACIÓN DEL QUESO	38
II.3.3. TRATAMIENTO DE SALADO	39
II.3.4. ANÁLISIS DE LOS PERFILES DE CONCENTRACIÓN	39

II.3.5. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	39
II.3.6. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE EFECTIVO DE DIFUSIÓN	40
II.3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
II.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
II.4.1. PERFILES EXPERIMENTALES DE CONTENIDO DE HUMEDAD Y CLORURO DE SODIO	42
II.4.2. EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN EFECTIVO DE NaCl	43
II.5. CONCLUSIONES	48
II.6. BIBLIOGRAFÍA	48
III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN	52
III.1. RESUMEN	53
III.2. INTRODUCCIÓN	53
III.3. MATERIALES Y MÉTODOS	55
III.3.1. TOMA DE MUESTRA Y ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA	55
III.3.2. ELABORACIÓN DEL FERMENTO NATURAL DE LECHE	56
III.3.3. ELABORACIÓN DEL QUESO	56
III.3.4. TRATAMIENTO DE SALADO	57
III.3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL	57
III.3.6. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	58
III.3.6.1. DETERMINACIÓN DE CLORURO	58
III.3.6.2. CONTENIDO DE HUMEDAD	58
III.3.7. CÁLCULO DEL ÁREA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA	58
III.3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	59
III.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59

III.4.1. ANÁLISIS DE LAS MATERIAS PRIMAS, RENDIMIENTOS, PÉRDIDAS DE PESO Y COMPOSICIÓN FINAL DE LOS QUESOS	59
III.4.2. PERFIL DE DISTRIBUCIÓN DE CLORURO DE SODIO	60
III.4.3. PERFIL DE DISTRIBUCIÓN DE AGUA	68
III.4.4. EVOLUCIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE NaCl Y HUMEDAD	73
III.5. CONCLUSIONES	76
III.6. BIBLIOGRAFÍA	77
IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN	83
IV.1. RESUMEN	84
IV.2. INTRODUCCIÓN	84
IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS	86
IV.3.1. TOMA DE MUESTRA Y ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA	86
IV.3.2. ELABORACIÓN DEL FERMENTO NATURAL DE LECHE	87
IV.3.3. ELABORACIÓN DEL QUESO	87
IV.3.4. TRATAMIENTO DE SALADO	87
IV.3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL	87
IV.3.6. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	88
IV.3.6.1. DETERMINACIÓN DE CLORURO	88
IV.3.6.2. CONTENIDO DE HUMEDAD	89
IV.3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	89
IV.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	89
IV.4.1. ANÁLISIS DE LAS MATERIAS PRIMAS, RENDIMIENTOS, PÉRDIDAS DE PESO Y COMPOSICIÓN FINAL DE LOS QUESOS	89
IV.4.2. DISTRIBUCIÓN DE CLORURO DE SODIO	90
IV.4.3. DISTRIBUCIÓN DE AGUA	97

IV.5. CONCLUSIONES	104
IV.6. BIBLIOGRAFÍA	105
V. SEPARACION E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL METODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA	110
V.1. RESUMEN	111
V.2. INTRODUCCIÓN	112
V.3. MATERIALES Y MÉTODOS	114
V.3.1. MUESTRAS	114
V.3.2. PREPARACIÓN FASES MÓVILES	114
V.3.3. SISTEMAS Y CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	115
V.3.4. PREPARACIÓN DE PATRONES DE CASEÍNAS	115
V.3.5. EXTRACCIÓN DE CASEÍNAS	115
V.3.6. PREPARACIÓN DE MUESTRAS	116
V.3.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO	116
V.3.7.1. IDENTIFICACIÓN	116
V.3.7.2. LINEALIDAD	116
V.3.7.3. ESTUDIOS DE PRECISIÓN	116
V.3.7.3.1. REPETITIVIDAD	117
V.3.7.3.2. REPRODUCIBILIDAD	117
V.3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	117
V.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	118
V.4.1. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA	118
V.4.2. ESTUDIO DE PRECISIÓN Y LINEALIDAD	120

V.4.2.1. REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO	121
V.4.2.2. REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN	123
V.4.3. VARIACIONES DE FRACCIONES PROTEICAS EN CUAJADAS	123
V.4.4. VARIACIONES DE LAS FRACCIONES DE CASEÍNAS DURANTE LA MADURACIÓN	126
V.5. CONCLUSIONES	134
V.6. BIBLIOGRAFÍA	135
VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE CABRAS SALADOS EN SECO	144
VI.1. RESUMEN	145
VI.2. INTRODUCCIÓN	145
VI.3. MATERIALES Y MÉTODOS	147
VI.3.1. MUESTRAS	147
VI.3.2. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS	148
VI.3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	148
VI.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	149
VI.4.1. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN CUAJADAS Y QUESOS	149
VI.4.2. VALOR NUTRICIONAL DE LOS ÁCIDOS GRASOS	159
VI.5. CONCLUSIONES	162
VI.6. BIBLIOGRAFÍA	163
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	170
VII.1. CONCLUSIONES FINALES	170
VII.2. RECOMENDACIONES	171

ÍNDICE DE FIGURAS

II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO DE QUESO DE CABRA

Figura II.1. Diagrama del mecanismo experimental utilizado para el salado del prisma semi-infinito	39
Figura II.2. Perfiles experimentales de concentración de sal para diferentes tiempos de salado	42
Figura II.3. Perfiles de concentración de agua a distintos tiempos de salado	42
Figura II.4. Valores de los coeficientes de difusión obtenidos para todos los tiempos estudiados, teniendo en cuenta las dos primeras distancias a la interfaz analizadas (0,005 m y 0,01 m)	46
Figura II.5. Modelado de los perfiles de NaCl teniendo en cuenta el coeficiente de difusión efectivo y el coeficiente calculado a partir de la Ec. (5) para el tiempo de 24 h	47
Figura II.6. Gráfico del análisis de regresión para el coeficiente de difusión en función de la concentración de NaCl	47

III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Figura III.1. a) Sistema de muestreo b) Representación de las porciones de muestreo teniendo en cuenta el diseño de superficie de respuesta	57
Figura III.2. Superficie de respuesta del cloruro sódico $[\text{gr NaCl} \cdot (\text{gr NaCl} + \text{gr agua})^{-1}]$ respecto al diámetro [cm] y la altura [cm] del queso. a. 5hs. b. 24 hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas	62
Figura III.3. Contornos de superficie del cloruro sódico $[\text{gr NaCl} \cdot (\text{gr NaCl} + \text{gr agua})^{-1}]$ respecto al diámetro [cm] y la altura [cm] de los quesos. a. 5hs. b. 24 hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas	63
Figura III.4. Representación gráfica del campo vectorial de los gradientes de NaCl calculados a partir de la ecuación de superficie de respuesta para el tiempo 1	64

Figura III.5. Representación gráfica del campo vectorial de los gradientes de NaCl calculados a partir de la ecuación de superficie de respuesta para el tiempo 2	66
Figura III.6. Superficies de respuesta de humedad [(g agua . (g ms) ⁻¹] respecto al diámetro (cm) y la altura (cm) de los quesos. hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas	70
Figura III.7. Contornos de superficie de Humedad [(g agua . (g ms) ⁻¹] respecto al diámetro [cm] y la altura [cm] de los quesos. a. 5hs. b. 24 hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas	72
Figura III.8. Variación del área de las superficies de respuesta del NaCl con respecto al tiempo	74
 IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN	
Figura IV.1. Sistema de muestreo	88
Figura IV.2. Histogramas de la concentración de sal [gr NaCl . (gr NaCl + gr agua) ⁻¹] en 48 puntos de muestreo en queso de cabra de aproximadamente 500 gr durante 4 semanas de maduración. a. 5hs. b. 24 hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas	91
Figura IV.3. Concentración promedio de NaCl para cada rodaja y tiempo de maduración estudiado	94
Figura IV.4. Histogramas de concentración de agua en 48 puntos de muestreo en queso de cabra de aproximadamente 500 gr durante 4 semanas de maduración. a. 5hs. b. 24 hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas	98
Figura IV.5. Concentración promedio de agua para cada rodaja y tiempo de maduración estudiado	101
Figura IV.6. Correlación entre la concentración de NaCl y agua para 48 puntos de muestreos. a) 3 semanas de maduración; b) 4 semanas de maduración	102
Figura IV.7. Perfil de secado de los quesos en función del tiempo de maduración	103

V. SEPARACION E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL METODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

- Figura V.1.** RP-HPLC cromatogramas. a) κ -caseína; b) α -caseína; c) β -caseína; d) caseína caprina; e) fase móvil 119
- Figura V.2.** Cromatograma de caseína de cabra con el agregado de 256 μ g de estándar de α -caseína bovina 121
- Figura V.3.** RP-HPLC cromatogramas. Muestras de cuajada de elaboraciones de los meses de Marzo y Noviembre de años consecutivos 124
- Figura V.4.** Variación de las áreas de las distintas fracciones de caseínas en queso de cabra en función del tiempo de maduración. Puntos azules: quesos salado en masa. Puntos rojos: quesos salado superficial. a. κ -caseína, b. α_{s2} -caseína, c. α_{s1} -caseína, d. β_1 -caseína, e. β_2 -caseína 127
- Figura V.5.** Cromatogramas de caseínas de quesos de cabra. T1: tiempo de maduración de 5 horas. T7: tiempo de maduración 28 días. a. Quesos salado en masa. b. Quesos salado superficial 129

VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE CABRAS SALADOS EN SECO

- Figura VI.1.** Porcentaje de ácidos grasos en los quesos de cabra salados en masa y superficial durante la maduración. a. AGC (C4:0-C12:0). b. AGM (C13:0-C17:0). c. AGL (C18:0-C20:4). d. AGV (C4:0 a C8:0) 158
- Figura VI.2.** Porcentaje de ácidos grasos en los quesos de cabra salados en masa y superficial durante la maduración. a. Ácidos grasos saturados. b. Ácidos grasos insaturados. c. Ácidos grasos poliinsaturados 160

ÍNDICE DE TABLAS

II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO DE QUESO DE CABRA

- Tabla II.1.** Análisis de varianza para coeficiente de difusión 44
- Tabla II.2.** Resultados del test de Bonferroni para el coeficiente de difusión efectivo según el tiempo de salado 45

III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Tabla III.1. Composición final de los quesos según la época del año	60
Tabla III.2. Análisis de varianza para la superficie de respuesta de la variable concentración de NaCl en los quesos evaluados	60
Tabla III.3. Contraste múltiple de Medias con diferencia mínima significativa (LSD, 95% de confianza) para el cloruro en las distintas muestras para un tiempo de maduración de 3 semanas	66
Tabla III.4. Contraste múltiple de Medias con diferencia mínima significativa (LSD, 95% de confianza) para el cloruro en las distintas muestras para un tiempo de maduración de 4 semanas	67
Tabla III.5. Concentración de sal media y la relación (R) entre la concentración local y la media del queso, para cada zona	68
Tabla III.6. Análisis de varianza para la superficie de respuesta de la variable humedad en los quesos evaluados	68
Tabla III.7. Áreas de las superficies de respuesta ajustada a los datos	74

IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

Tabla IV.1. Composición final de los quesos	90
Tabla IV.2. Resultado del análisis estadístico de comparación de varias muestras para el factor Rodajas. Aplicación del Test de Tukey HSD para la comparación de las medias en cada tiempo	92
Tabla IV.3. Resultado del análisis estadístico de comparación de varias muestras para el factor Rodajas. Aplicación del Test de Tukey HSD para la comparación de las medias en cada tiempo	99

V. SEPARACION E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL METODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Tabla V.1. Repetitividad y Reproducibilidad del método analítico expresado en función del Coeficiente de Variación (CV)	122
--	-----

Tabla V.2. Repetitividad y Reproducibilidad del método de extracción expresado en función del Coeficiente de Variación (CV) 122

Tabla V.3. Comparación de muestras de cuajadas en función del momento de elaboración 123

Tabla V.4. P-valor obtenido del análisis de covarianza para las áreas de las fracciones de caseínas estudiadas 126

Tabla V.5. Contraste Múltiple de Medias aplicando el Procedimiento de diferencia altamente significativa de Tukey (HSD) (95% de confianza) para el valor medio del área de las fracciones de caseínas de las muestras estudiadas 128

VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE CABRAS SALADOS EN SECO

Tabla VI.1. Concentración de ácidos grasos [g AG . (100 gr AG totales)⁻¹] para las muestras de cuajada utilizadas posteriormente para elaborar quesos con diferente tipo de salado 150

Tabla VI.2. Concentración de ácidos grasos [g AG . (100 gr AG totales)⁻¹] en función del tiempo de maduración y el método de salado 153

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO

La producción lechera caprina a partir de su producto primario básico - la leche fluida -, ofrece un sin número de posibilidades que permiten iniciar procesos de transformación productiva con el consecuente incremento de su valor agregado en las fases sucesivas a la producción primaria (Goldsmith, 1985). El valor intrínseco de la propia materia prima originada por las características organolépticas y la incorporación de valor agregado a la producción familiar, a través de la elaboración de quesos artesanales, poniendo énfasis en la dimensión ambiental regional o local, le otorga una característica distintiva y propia (Catalano et al., 1999), la que puede usarse para generar una denominación de origen que le proporcione a la producción local una diferenciación comercial y en consecuencia una mayor rentabilidad.

En un producto típico convergen en su propia definición conceptos interconectados tales como calidad, territorialidad y una característica cualitativa particular que lo diferencia notablemente de otros productos (Caldentey Albert y Gómez Muñoz, 1996).

La producción de quesos de ovinos y caprinos en Argentina se caracteriza por llevarse a cabo en explotaciones de tipo familiar que desarrollan simultáneamente la producción primaria y la fabricación de quesos para su propio consumo o bien para la comercialización junto con otros productos (corderos, chivitos, etc.) (Maggio y Lizziero, 1999).

La estacionalidad, pocos animales en lactación, bajos rendimientos de producción de leche por animal, condiciones higiénico-sanitarias deficientes en la calidad de la leche, son aspectos técnico-productivos de las explotaciones que derivan en el tipo de producción predominante (Paz et al., 2006b).

En los últimos años se fue modificando el patrón de consumo alimentario, especialmente del consumidor urbano de los países más desarrollados, con un discurso donde se entrecruzan inquietudes ecológicas, con preocupaciones por la seguridad alimentaria y por la salud, valores, en suma, que aparecen indisolublemente unidos a los productos locales donde lo rural, el rescate de los productos típicos, la naturalidad con su respectivo proceso artesanal, conforman el nuevo imaginario relativo al consumo de los alimentos (Paz et al., 2006b; Aguilar Criado et al., 2011).

En este contexto la actividad lechera caprina y el proceso agroindustrial, orientado a la elaboración de quesos, cobra un especial énfasis al constituir una producción de corte netamente local donde lo territorial conjuga lo propiamente geográfico con la dimensión sociocultural e histórica (Arocena, 1999).

En el caso del queso de cabra que tradicionalmente se elabora en la provincia de Jujuy el salado se realiza en su mayoría por distribución en seco de la sal, ya sea por mezcla de sal con la masa de cuajada, por distribución de sal sobre su superficie o por la distribución de sal entre capas de cuajada de altura constante, durante la operación de moldeado. El salado seco es de amplia difusión en esta región debido a que de esta manera no se requiere lugar físico para mantener los



quesos sumergidos en salmuera y la cantidad de sal usada es mucho menor (Santapaola et al., 2012).

Se desconoce la distribución de sal y agua en estos quesos de cabra salados por mezcla de sal seca con gránulos de cuajada y por distribución de sal sobre su superficie, su evolución durante la maduración y la influencia de estos métodos de salado sobre las características fisicoquímicas.

Conocer los gradientes de concentración de NaCl desarrollados en un método de salado específico puede ayudar a comprender otros cambios bioquímicos que ocurren durante el salado y la maduración. En efecto, en procesos que implican la difusión simultánea de varios solutos, el gradiente del soluto que se encuentra en mayor concentración puede causar modificaciones en las propiedades de difusión de solutos que se encuentran en menor cantidad. Si estos solutos son importantes para la maduración, las modificaciones de sus propiedades de difusión pueden tener consecuencias en las propiedades sensoriales del queso, en su calidad final y/o en su conservación (Floury et al., 2010). De hecho Gerla y Rubiolo (2003) cuando estudiaron el transporte de masa multicomponente de ácido láctico y NaCl en un sistema sólido-líquido durante el proceso de salado de queso Pategrás, encontraron que durante el mismo, la velocidad de difusión del NaCl era independiente del gradiente de concentración del ácido láctico, mientras que la velocidad de difusión del ácido láctico aumentó 12 veces debido a cambios en la concentración de NaCl en el queso.

Una comprensión detallada de la distribución de la sal, su evolución durante la maduración y la influencia sobre las características fisicoquímicas ayudará a optimizar la producción y así mejorar la calidad del producto final. Debido a la poca bibliografía existente sobre métodos de salado en seco y siendo estos métodos los más usados en la región es que se propone estudiar los perfiles de distribución de sal y agua en quesos salados en seco, superficial y en masa. Conocer la evolución de estos perfiles durante el proceso de maduración y su influencia en el desarrollo de algunos parámetros fisicoquímicos con el objetivo de plantear mejoras a aplicar en la producción de este tipo de quesos de cabra y ayudar a las comunidades agrícolas a incrementar la calidad final de sus productos.

La ejecución del proyecto de tesis proporcionó un avance en el conocimiento de técnicas productivas locales y en el desarrollo de tecnologías de procesamiento de la leche de cabra, cuyo comportamiento está supeditado a sus características intrínsecas, las que pueden variar con las condiciones del suelo y el clima, propios de la región, así como el efecto que estas tecnologías causan en el producto final.

Además, también potenció las capacidades operativas en un comprometido accionar para incentivar la generación de conocimiento en el área de leche y queso de cabra, productos de importancia en la región por su originalidad, su calidad de autóctonos, su volumen de producción, con el interés enfocado en el perfeccionamiento de tecnologías que permitan el desarrollo de una adecuada conservación y posterior comercialización.



I.2. OBJETIVO GENERAL

Conocer la distribución de sal y agua en el salado seco superficial y en el salado seco en masa, y su evolución durante el proceso de maduración, así como la influencia del método de salado en algunos parámetros fundamentales del proceso de maduración.

I.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el coeficiente de Difusión de sal durante el salado en seco de queso de cabra.
2. Estudiar la evolución de los perfiles de sal y humedad durante la etapa de maduración de:
 - 2.1. Quesos de cabra salados por el procedimiento de salado en seco superficial.
 - 2.2. Quesos de cabra salados por el procedimiento de salado en masa.
3. Determinar y comparar la influencia de los métodos de salado en la evolución de la proteólisis primaria durante la maduración.
4. Determinar y comparar la influencia de los métodos de salado en el perfil de ácidos grasos durante la maduración.

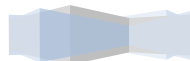
I.3. ESTRUCTURA DE LA TESIS

A continuación, en el presente capítulo se desarrolla una revisión bibliográfica sobre los puntos más relevantes que involucran al desarrollo de la presente tesis. Ellos son: la situación del desarrollo de la actividad caprina en la Argentina, haciendo hincapié en la región del Noroeste argentino y la provincia de Jujuy; las características de los quesos de cabra; la importancia del proceso de salado en los quesos, profundizando en el proceso de transferencia de masa involucrado y los dos tipos de salado en seco que se estudian en la tesis; y los fenómenos implicados en la maduración de quesos, haciendo hincapié en la proteólisis y en el perfil de ácidos grasos.

Cada uno de los capítulos siguientes se presenta como trabajos de investigación en donde se encontrará un resumen del capítulo, introducción, materiales y métodos, resultados y discusión y conclusiones.

En el capítulo II se aborda el estudio de la cinética de difusión de sal en cuajada de cabra, determinando los perfiles experimentales de sal y agua y su evolución con el tiempo y modelizando los resultados utilizando las soluciones a la ecuación de Fick para un cuerpo semi-infinito. Este capítulo está orientado a la consecución del objetivo específico 1 de la tesis.

El capítulo III, orientado al objetivo específico 2.1, muestra el estudio de los perfiles de distribución de cloruro de sodio y agua en quesos de cabra salados en seco superficial y su



evolución durante la maduración. Los resultados de este capítulo se analizaron utilizando la metodología de superficie de respuesta.

Los cambios en la concentración de NaCl y agua en quesos de cabra salados por distribución de 2% de sal seca en gránulos de cuajada y posteriormente moldeados (salado en masa) y madurados en cámara a 10°C y 90% de humedad relativa durante 4 semanas se muestran en el capítulo IV, cubriéndose así el objetivo 2.2. de la tesis.

En el capítulo V se presentan los estudios y resultados referentes a la puesta a punto y validación de un método de RP-HPLC para la separación y el análisis cualitativo y simultáneo de caseínas caprinas. Con esta metodología se estudió la evolución de la proteólisis primaria en quesos de cabra salados por los dos métodos de salado en seco (superficial y en masa) y madurados durante 4 semanas. En este capítulo se aborda el objetivo específico 3 de la tesis.

El capítulo VI recoge el estudio de caracterización del perfil de ácidos grasos de quesos de cabra salados en seco por las dos metodologías diferentes en estudio, a lo largo del período de maduración, alcanzándose el objetivo específico 4 de la tesis.

Finalmente, las conclusiones y recomendaciones que derivan de los estudios realizados en esta tesis se presentan en el capítulo VII.

I.4. ANTECEDENTES SOBRE LA TEMATICA DE ESTUDIO

I.4.1. PRODUCCIÓN CAPRINA EN LA PROVINCIA DE JUJUY

La cabra, tal vez la primera de las especies domesticadas por el hombre y relacionada a éste por más de 10.000 años, es un animal destacable por su rusticidad, precocidad, docilidad y adaptación al medio, que le prodiga tanto carne, como leche, pieles y fibras (French, 1970).

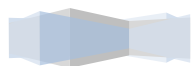
Los caprinos se crían en Argentina en las regiones áridas y semiáridas por productores de escasos recursos económicos, manteniéndose esta producción con características económicas de subsistencia. A pesar de no gravitar en la economía nacional, la explotación caprina es de fundamental importancia para satisfacer lo esencial de la alimentación humana (carne y leche) y atender otras necesidades de los pobladores de estas regiones, tales como la ocupacional, la radicación o el asentamiento de la familia rural y la formación del espíritu productivo (Maubecín, 1983).

La producción caprina en el país, presenta una problemática común para todas las regiones, que parte básicamente de la condición socioeconómica de la mayoría de los productores dedicados a la actividad, que los ubica dentro del estrato minifundista, dentro del cual pocos son propietarios de las tierras que explotan, siendo la gran mayoría “ocupantes” de las mismas. Dicha condición, no los motiva de manera suficiente a fin de mejorar los niveles de producción, a partir de inversiones en instalaciones, pasturas, etc., las que con normas de manejo en alimentación y sanidad apropiadas, sumadas a una eficiente cadena de comercialización, redundaría en mayores niveles de ingresos que mejorarían gradualmente su condición de vida. En efecto, el último Censo

Nacional Agropecuario realizado en el país que data del año 2002, en la región del Noroeste Argentino (NOA), siendo Jujuy una de las seis provincias que forma esta región, existían alrededor de 59.257 explotaciones agropecuarias, cuyas superficies abarcaban un total de 13.671.117 ha. La unidad estadística utilizada en este censo se denomina Explotación Agropecuaria (EAP), la cual para ser considerada como tal debe cumplir con ciertos requisitos, entre ellos ser una unidad de organización de la producción y producir bienes agrícolas, pecuarios o forestales en superficies no menores a los 500 m², así como la existencia de una persona física o jurídica que ejerza la dirección de la explotación, adopte las principales decisiones acerca de la utilización de los recursos disponibles y asuma los riesgos de la actividad productiva (Paz, 2006a). Una de las características principales obtenida a partir de los datos relevados en este censo era la importancia en términos relativos de explotaciones agropecuarias sin límite definido, que comprendía al 38% del total, constituyendo un indicador aproximado de la precariedad existente en la propiedad de la tierra para un número significativo de productores. A su vez, esta problemática regional afectaba en forma diferencial a las provincias, alcanzando en algunos casos a la mitad de las explotaciones agropecuarias como es el caso de la provincia de Jujuy con el 55% del total en esta condición (Chavez y Alcoba, 2014).

En la provincia de Jujuy, existían en 2002 alrededor de 8.983 EAP, cuyas superficie total abarcaba 1.282.063 hectáreas. 7.647 de ellas pertenecían a pequeños productores, las cuales ocupaban alrededor de 398.593 ha, con una superficie promedio de 52 ha/EAP. Se toma de Obschatko et al. (2007) el término Pequeños Productores, quienes los califican como aquellos cuya dotación de recursos no le permite vivir exclusivamente de su explotación y mantenerse en la actividad, por lo que deben recurrir a otras estrategias de supervivencia (trabajo fuera de la explotación, generalmente como asalariado transitorio en changas y otros trabajos de baja calificación). Estos poseen acentuadas condiciones de pobreza y su mantenimiento en el campo se explica, en una gran mayoría de casos, por el aporte que recibe de programas públicos de asistencia social y por otros ingresos eventuales. Las EAP restantes, sumaban en total 1.336 y ocupaban una extensión aproximada de 883.469 ha, siendo en este caso la superficie promedio de 661 ha/EAP (Chavez y Alcoba, 2014). Las cifras expuestas, dan cuenta de la concentración existente en la propiedad de la tierra en manos de productores grandes y medianos. En efecto, el 85% de las explotaciones agropecuarias pertenecen a pequeños productores pero estos sólo poseen el 31% del total de la superficie.

En el año 2002, el 21% del total de cabezas de la ganadería de pequeños productores de la provincia de Jujuy estaba dedicada a la cría de caprinos. Del total de explotaciones agropecuarias en Jujuy, el 30% realizaba actividades comerciales a partir de la propia producción. Dos actividades se destacaban dentro del conjunto de las EAP que desarrollaban algún tipo de agregado de valor sobre la producción predial: elaboración de quesos y otros derivados de la leche con el 44% y la actividad de hilados y tejidos artesanales, en segundo lugar con el 42%. Ambas actividades explicaban el 86% del total de casos de las EAP con actividades conexas, las cuales representan producciones asociadas con la agricultura familiar. Otro aspecto relevante y que complementa la suposición de la alta participación de la agricultura familiar en el agregado de valor, es la importancia de EAP sin límite definido. El 81% de las EAP que realizaban elaboración de quesos y otros derivados de la leche eran unidades sin límite definido, mientras que aquellas que realizaban hilados y tejidos artesanales elevaban al 87% su participación en esa condición.



Comúnmente, la condición de unidad sin límite definido se plantea como indicador aproximado de precariedad en la tenencia de la tierra, constituyendo un rasgo que caracteriza principalmente a pequeños productores. La agricultura familiar además, manifiesta una significativa participación en la actividad de ganadería y derivados (Chavez y Alcoba, 2014).

La existencia de los campesinos "ocupantes" se remonta desde el propio origen de la configuración de la estructura agraria en el noroeste argentino y su permanencia queda explicada a partir de la propia situación de marginación socio-espacial de las áreas que ocupan así como la escasa penetración del capital. Esto se refleja justamente en procesos de migración estacional, un fuerte componente de autoconsumo, predominio de formas de tenencia distintas a las de apropiación privada, situación jurídica irregular de las tierras, presencia de un sistema informal de comercialización y en la predominancia de un tipo de producción pecuaria de baja productividad y calidad, resultado del desarrollo de un sistema de producción extensivo y tradicional con escasa o nula incorporación de tecnología, adaptado a los pocos recursos forrajeros que brinda la naturaleza en este tipo de ecosistemas (Paz, 2006a).

En síntesis, los agricultores familiares del NOA se encuentran sumidos en extrema precariedad en cuanto a tierra y capital. Como lo analiza Quiroga Mendiola et al. (2013) todos ellos deben recurrir a la venta de su fuerza de trabajo fuera del predio, como estrategia para complementar los ingresos totales. Por otro lado, la mayor parte de los ingresos familiares se deben a las ventas de sus producciones agropecuarias/agroindustriales y no por los ingresos externos, por lo que la comercialización de los productos es un punto de análisis para pensar políticas acordes con el sector. En este sentido la regularización de los títulos de la tierra que utilizan estos productores, el acceso a tecnologías que permitan menores costos y aumento de utilidades, el fomento de valor agregado in situ, el acceso a información sobre precios y puntos de acopio, la mejora en las vías de comunicación, y un análisis más acabado sobre cantidad, calidad, espacialidad y temporalidad del trabajo extrapredial son exámenes necesarios para lograr mejor calidad de apoyo al sector.

Por otro lado el campesino ocupante, a lo largo de la historia, ha ido construyendo un modelo productivo en base a lo pecuario, el que demuestra ser exitoso para su permanencia y continuidad. Tal vez no sea reproducible para otros campesinos que habitan el continente latinoamericano, pero es una muestra de la capacidad de adaptación y de su tenacidad para sobrevivir (Paz, 2006a).

En la región noroeste de nuestro país, el queso de cabra constituye el más importante derivado de la leche. Se elabora en forma artesanal con características y presentaciones que varían de acuerdo con el proceso de elaboración y costumbres propias de cada lugar (Maldonado et al., 2012).

La elaboración de queso de cabra en Jujuy, en concordancia con la realidad de la región, se realiza mayoritariamente a nivel artesanal sin tener de esta manera ningún tipo de control durante la misma. Esto trae aparejado defectos de elaboración, que a veces pasan inadvertidos para los consumidores, y otras veces producen la pérdida de materia prima para los productores, con el consecuente detrimento económico (Santapaola et al., 2012).

I.4.1.1. AGREGADO DE VALOR EN AGROINDUSTRIAS RURALES

En la última década, la producción de leche de cabra en algunas zonas de nuestro país denominadas “extrapampeanas” adquirió mayor importancia y despertó el interés de organismos provinciales, instituciones, universidades y de organizaciones no gubernamentales, tanto en lo que hace a la investigación como a la difusión de las más eficientes técnicas de manejo, sanidad, reproducción, alimentación, industrialización de la producción y comercialización. Esto se debe a la intención de agregar valor a las producciones primarias con el objetivo de generar planes de mejora de las economías de lugares como las áreas rurales del centro y noroeste del país y también porque existe un mercado regional insatisfecho y con una demanda alta por quesos de cabra. Estos planes han permitido a algunos pequeños productores o agrupaciones cooperativas, acceder a financiamiento para la incorporación de tecnología.

Las razas lecheras caprinas se explotaban en la Argentina en distintas regiones con la finalidad de subsistencia. Actualmente se ha realizado cruzamiento entre la cabra criolla con razas lecheras con el objetivo de aumentar la producción de leche. En los últimos años, se ha incrementado la producción de quesos elaborados a partir de leche de cabra, proceso que ha adquirido a escala artesanal gran importancia regional. A diferencia de la producción bovina, la caprina se caracteriza por ser estacional, con volúmenes medios entre 900 y 1200 ml de leche por animal por día. Debido a ello, el volumen diario producido de un hato caprino nacional ha llevado a la industrialización artesanal, con instalaciones reducidas, practicando el acopio de leche para concentrar la elaboración en un día de la semana (Miceli et al., 2007).

Según Paz et al. (2006b), la estructura o tamaño de una planta industrial para la elaboración de quesos, de características familiares, puede oscilar entre los 100 m² y los 200 m² aproximadamente, muy pequeña en términos relativos comparado con los otros complejos agroindustriales.

Bajos volúmenes de producción para llegar al punto de equilibrio y la característica de producto artesanal, le confiere requerimientos de instalaciones muy sencillas y de bajo costo, donde el aspecto primordial lo marca el conocimiento del proceso de elaboración por parte del técnico quesero y no los altos niveles de inversión (Schejtman, 1994).

Estas características son comunes a las de plantas procesadoras con las que esta tesis planea su articulación, acorde a los recursos locales de este espacio geográfico determinado, pudiéndose presentar posibilidades de aumentar su valor agregado a través de producción orgánica, denominación geográfica y/o con denominación de origen en acuerdo a lo expresado por Paz et al. (2006b).

Otra característica intrínseca de la actividad lechera caprina es la de facilitar o propender al asociativismo para salvar problemas de escala y organizativos. En efecto, no es casual el desarrollo de distintas formas de organización por parte de los tamberos. Precisamente, la industria quesera requiere de una oferta de leche constante en el tiempo por lo que la viabilidad de la lechería caprina sólo es posible en un marco de desarrollo al menos micro-regional, donde el establecimiento y fortalecimiento de la cuenca lechera requiere la incorporación de muchos productores de forma organizada. Para tal fin entonces, es necesario el incremento de tambos y



el desarrollo de los mismos, que más allá de ser una competencia entre los productores, constituye una necesidad por parte de los propios tamberos y también de la planta quesera a los efectos de lograr escalas productivas que resulten competitivas (Paz et al., 2006b). Relacionado con todo ello se encuentra la recolección diaria de la leche que genera una comunicación más fluida de las familias campesinas con los centros más poblados, movilizándolo además la economía en general a partir de la generación de actividades complementarias (Álvarez y Paz, 1998).

Artesanalidad, intensificación de la mano de obra familiar, pequeña producción con escala mínima de cabras y una cultura tambera caprina, entre otros, son componentes no visibles del funcionamiento cotidiano del pequeño productor. Estos aspectos influyen de manera silenciosa en la posibilidad de crecimiento y desarrollo (Paz et al., 2006b). Esto que para muchos autores se denomina capital social (Kliksberg y Tomassini, 2001) debe constituir la base para lograr dimensiones productivas competitivas y de calidad.

Por lo tanto, es posible y necesario incentivar el desarrollo de la agroindustria local en base a los productos derivados de leche de cabra y las oportunidades que se vislumbran para la comercialización de este tipo de producto se fundamentan en el crecimiento del consumo de productos naturales y artesanales, la denominación de origen/geográfica y los precios atractivos. Para ello es necesario conocer el producto local, en este caso, el queso de cabra.

I.4.2. EL QUESO DE CABRA REGIONAL

La conservación de los nutrientes de la leche en forma de queso es uno de los procesos tecnológicos más antiguos utilizados por la humanidad. Con el transcurso del tiempo, el queso se ha convertido en el derivado lácteo de mayor importancia en la alimentación humana, tanto por su condición de alimento de larga conservación como por su alto valor nutritivo, su equilibrada composición química y sus excelentes cualidades organolépticas (Scott et al., 2002).

La leche de cabra tiene algunas características especiales y únicas de aroma y sabor así como también cualidades nutricionales y beneficiosas para la salud. Tales propiedades pueden ser influenciadas por muchos factores, entre ellos la raza, genética, fisiología, alimentación, medio ambiente y tecnología de producción (Raynal-Ljutovac et al., 2008).

Varios estudios e investigaciones epidemiológicas han destacado las propiedades nutricionales y la presencia de componentes minoritarios de interés farmacológico en la leche de cabra, por lo tanto se recomienda su consumo para una dieta saludable (Greppi et al., 2008). Esto se ha traducido en una mayor interés en la leche de cabra y en que se la clasifique como un alimento funcional (Michaelidou, 2008; Silanikove et al., 2010; Renna et al., 2012). La leche de cabra ha sido identificada como una alternativa viable para los consumidores que son sensibles a las proteínas de leche de vaca y desarrollan reacciones alérgicas a la leche bovina. En comparación con la leche de vaca, es menos alérgica debido a una proporción más pequeña de α_{s1} -caseína (5% de las proteínas totales de caseína) y existen individuos que poseen alelos “nulo” para la α_{s1} -caseína, por lo que hay eliminación completa de esta fracción de caseína (Ramunno et al., 2001). Lara-Villoslada et al. (2005) también han argumentado que la alergenicidad inferior de la leche de

cabra en comparación con los resultados en leche de vaca se debe a que la proporción inferior de α_{s1} -caseína reduce la sensibilidad a una segunda proteína alergena, que es la β -lactoglobulina (β -LG). Según Wróblewska y Jęzdrychowski (1999), citado en Brodziak et al. (2014), en comparación con la leche de vaca, la alergenicidad de la leche de cabra es de aproximadamente 72% a 73% más baja en relación con α -lactoalbúmina y aproximadamente 96% menor en relación con β -LG. La grasa de la leche de cabra es más digerible que la grasa de la leche bovina y esta ocurrencia puede estar relacionada con el menor tamaño promedio de los glóbulos de grasa de la leche caprina y el mayor contenido de ácidos grasos de cadena corta y media (Cossignani et al., 2014).

El queso de cabra que se elabora en la región se obtiene sin el agregado de bacterias a partir de un fermento. En general se elabora con leche cruda, sin pasteurizar. Por lo tanto, la microflora que actúa durante la elaboración del queso y la maduración es indígena, derivada de la leche o el medio ambiente y, por esta razón, puede ser considerada autóctona. La presencia de microorganismos indígenas proporciona características que vinculan su presencia a la tipicidad de un determinado queso. Esto es particularmente cierto para quesos artesanales, que se producen en áreas restringidas, cuyo territorio y los hábitos, así como las condiciones edafoclimáticas y las actividades antropogénicas (no reproducible en otros lugares), son la expresión de la historia y la tradición (Todaro et al., 2011).

Conociendo la importancia sanitaria de la pasterización de la leche y con el objetivo de no perder las características de autóctono de los quesos de la región es que en esta tesis se ha utilizado para el proceso de elaboración de los quesos un fermento desarrollado a partir de la misma leche empleada como materia prima (ver Materiales y métodos capítulos III y IV). Esto es posible bajo el control de la calidad higiénico-sanitaria de la materia prima. Este aspecto es fundamental a la hora de permitir que la leche caprina exprese todo su potencial durante la maduración del producto. El uso de fermentos lácticos homólogos entre la materia prima y la fuente de aislamiento está ampliamente aceptado, ya que las bacterias lácticas poseen un mayor nivel de adaptación al producto elaborado (Oliszewski et al., 2014).

Debido principalmente a la falta de datos sobre métodos de producción, características bioquímicas y microbiológicas, lo que excluye la producción bajo condiciones controladas, una gran variedad de quesos de cabra caseros se producen en la provincia de Jujuy.

En Argentina existen grupos de investigación que están trabajando en el desarrollo de fermentos lácticos para quesería caprina. En efecto, Oliszewski et al. (2006, 2007) sobre un total de 200 bacterias aisladas de leche y productos lácteos artesanales del Noroeste Argentino realizaron una primera selección de 20 cepas de acuerdo a sus propiedades tecnológicas de crecimiento, tasa de acidificación y actividad enzimática. Las cepas fueron identificadas fenotípicamente y las que mostraron mayor aptitud se identificaron también mediante biología molecular. Todas las cepas fueron probadas como no patogénicas a fin de asegurar la inocuidad de los productos elaborados. El diseño de fermentos se realiza combinando las cepas que demuestran mayor aptitud en crecimiento y acidificación, como así también en sus capacidades proteolíticas y lipolíticas. Taboada et al. (2014) caracterizaron también un total de 286 bacterias ácido lácticas aisladas de productos lácteos de cabra del noroeste argentino. Ancasi et al. (2015) identificaron 128 levaduras y 39 lactobacilus en quesos frescos de cabra de la Quebrada de Humahuaca (Jujuy), los



resultados obtenidos en este estudio muestran que la composición de las poblaciones de bacterias ácido lácticas y levaduras en quesos artesanales es específica de la región. Estos resultados muestran que es posible fabricar quesos de cabra con fermentos autóctonos seleccionados de manera de poder lograr un queso de cabra artesanal de características diferenciales, controladas y seguras.

El sabor característico del queso es consecuencia del delicado equilibrio entre un gran número de compuestos formados a través de eventos bioquímicos complejos, incluyendo procesos tales como proteólisis y lipólisis, el metabolismo de la lactosa, lactato y citrato y el catabolismo de los aminoácidos y ácidos grasos libres (McSweeney y Souza, 2000). Este balance está relacionado con la variedad de grupos microbianos que se pueden encontrar en la matriz de proteína-grasa obtenida en la cuajada (Franciosi et al., 2011). Durante la maduración, la complejidad de la estructura microbiana asociada con la cuajada, produce la disminución en el pH ya que las bacterias ácido lácticas (LAB) producen ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, que junto con la presencia de sal, baja humedad y temperaturas bajas produce un medio ambiente estresante para muchos microorganismos (Turner et al., 1986). El queso obtenido es la consecuencia de la sumatoria de todos estos fenómenos y el procesamiento tecnológico utilizado tiene una gran influencia en el resultado final.

I.4.3. EL SALADO EN LOS QUESOS

La mayoría, sino todas las variedades de queso, son saladas durante su elaboración. La concentración de NaCl puede variar desde < 1% (por ej. en el Emmental) hasta un 10-12% (por ej. en el Domiati) (Morris et al., 1985).

La medición del contenido de sal es un importante punto de control de calidad en la producción de quesos ya que la concentración y distribución de sal en los quesos tiene mucha influencia en varios aspectos de su calidad. Algunos de los principales efectos de la sal son los siguientes (Fox et al., 2000):

- Inhibe o retarda el crecimiento y la actividad de los microorganismos, incluyendo a los patógenos y los que producen enfermedades transmitidas por alimentos y por lo tanto aumenta la seguridad de los quesos.
- Inhibe la actividad de varias enzimas en quesos.
- Afecta el fenómeno de sinéresis de la cuajada, resultando en la expulsión del suero y la disminución de la humedad de los quesos, lo que también influye en la actividad de microorganismos y enzimas.
- Produce cambios en las proteínas del queso, lo que influye en la textura, la solubilidad de la proteína y probablemente en la conformación de la estructura proteica de los quesos.
- Afecta el sabor directa e indirectamente a través de la influencia sobre los microorganismos y enzimas que se desarrollan en los quesos.
- Altos niveles de sal en los quesos tienen un efecto nutricional indeseable.



Estos efectos han sido investigados en numerosos trabajos que se centran en la influencia de la sal en la composición fisicoquímica, bioquímica, la textura y las propiedades sensoriales del queso durante la maduración (Guinee y Fox, 2004; Kaya, 2002; Masoud y Jakobsen, 2005; Melilli et al., 2006; Ponce De León-González et al., 2000).

En el proceso de elaboración del queso hay muchos factores que influyen para obtener un producto de buena calidad higiénica y organoléptica. Uno de estos factores es el tipo de salado, que determina la concentración y la homogeneidad final de sal en el queso y esto afecta la actividad de agua disponible lo que limita el desarrollo de microorganismos y reacciones bioquímicas y enzimáticas.

El queso es salado mayoritariamente por tres métodos: inmersión en salmuera, por aplicación directa de sal en la superficie (salado superficial) o por mezcla de sal seca con la cuajada cortada (salado en masa) antes del moldeo (Guinee y Fox, 2004; Liu y Puri, 2008; Messens et al., 1999; Ponce De León-González et al., 2000).

La tendencia en el mundo es hacia la adición directa de sal al queso y dejar de lado el uso de salmueras. Esto es principalmente el resultado de regulaciones más estrictas relativas a la eliminación de las salmueras y el costo de mantenimiento tanto química como microbiológicamente (Johnson y Law, 2010).

Un análisis de los perfiles de concentración de sal desarrollados en el queso durante todo el proceso de transferencia de masa es un buen método para clarificar el alcance de los mecanismos involucrados ya que el método y las condiciones del salado influyen en la velocidad de distribución de la sal y por lo tanto en el contenido de humedad y sal (Giroux et al., 2014). En la elaboración del queso, los perfiles de sal obtenidos durante el salado adquieren especial relevancia porque afectan el desarrollo de la maduración, ya que el contenido de sal influye en el desarrollo de los procesos bioquímicos y microbiológicos (Escriche et al., 1999; Pavia et al., 1999).

Geurts et al. (1974, 1980) han investigado sobre los mecanismos que controlan la penetración de sal en el queso (acompañada por la migración de agua hacia el exterior) y concluyeron que el movimiento de sal está descrito por un proceso de difusión.

I.4.3.1 PROCESO DE DIFUSIÓN

El transporte de agua y solutos de la fase acuosa, como por ejemplo el NaCl o productos de reacción como el ácido láctico, tiene un papel crucial durante la elaboración y maduración del queso.

Además de una variabilidad temporal en las propiedades del queso, ocurridas durante la maduración, existe una variabilidad espacial. A nivel macroscópico, las diferentes variedades de queso son heterogéneas en cuanto a sus propiedades físicas y químicas debido a su proceso de producción (Vandenberghe et al., 2014).

Dado que el queso es un alimento multi-componente y co-existe la difusión de diferentes micro moléculas, la sal tiene que difundir en una ruta indirecta para evitar la obstrucción debido a



cadena de proteínas y glóbulos de grasa, por lo que resulta muy importante estudiar la distribución espacial de NaCl y desarrollar modelos espacio-dependientes durante el proceso de maduración (Zhu et al., 2011).

Durante el salado, se produce un movimiento neto de iones Na^+ y Cl^- , con el objetivo de igualar el potencial químico de estos elementos en el queso, como consecuencia se producen diferencias en la presión osmótica lo que resulta en un movimiento de agua que difunde por toda la matriz del queso para restablecer este equilibrio.

En el fenómeno de difusión del agua y particularmente del NaCl, influyen las características fisicoquímicas, la composición y microestructura de la matriz. Para medir estas transferencias se determinan los coeficientes de difusión (D) (Floury et al., 2010). Muchos autores describen este fenómeno usando la segunda ley de difusión de Fick, considerando el coeficiente de difusión como una constante para todo el proceso (Geurts et al., 1974; Gros and Rüegg, 1987; Guinee y Fox, 1983; Luna y Bressan, 1987; Turhan, 1996; Zorrilla y Rubiolo, 1994). Este coeficiente de difusión representa la difusividad aparente del NaCl a través del queso considerando a la matriz sólida del queso y al NaCl como los dos componentes del sistema binario de difusión. Más exactamente, algunos autores han definido el coeficiente efectivo de difusión del NaCl en la solución acuosa contenida en el queso considerando el sistema binario de difusión constituido por el agua del queso y el NaCl como soluto. Esta última presunción representa mejor el fenómeno de difusión. Se han encontrado diferentes valores del coeficiente efectivo de difusión para distintos tiempos de salado en las mismas condiciones (Guinee y Fox, 1983; Turhan, 1996) indicando que este parámetro no puede considerarse constante porque depende de la concentración de los componentes (Payne y Morison, 1999).

En la bibliografía están disponibles numerosos datos sobre coeficientes de difusión para NaCl en queso y, en menor medida, para difusión de agua, datos que cubren una amplia gama de valores. Esto es sin duda, debido a la complejidad y diversidad en la estructura y la composición del queso, dependiendo del tipo y origen del queso, así como de los diversos métodos de determinación utilizados.

Los factores que afectan la velocidad de la difusión de sal en los quesos durante el salado en salmuera han sido investigados en detalle (Pajonk et al., 2003; Turhan y Kaletunç, 1992; Payne y Morison, 1999; Guinee y Fox, 1983, 1986; Zorrilla y Rubiolo, 1991, 1994; Messens et al., 1999; Gerla y Rubiolo, 2003; Luna y Bressan, 1986; Bona et al., 2007). Estos factores son:

- el gradiente de concentración a través de las diferentes zonas del queso, que tiene un efecto importante sobre el nivel de absorción de la sal por el queso durante el salado, pero apenas afecta la velocidad de difusión de la misma;
- la temperatura de salado y
- la composición del queso (grasa, proteína y humedad).

Es difícil establecer el efecto individual de cada componente en la velocidad de difusión de sal porque existen fuertes interacciones entre ellos, dependiendo de la microestructura del queso.



Por el contrario, poca investigación se ha llevado a cabo para determinar qué factores influyen en la difusión de sal en quesos, posteriormente al salado. Es de suponer que los factores involucrados también afectarán la difusividad de sal durante la maduración y por lo tanto, ésta tendrá un efecto decisivo en el tiempo requerido para llegar al equilibrio en la concentración de sal y humedad (Guinee, 2004).

El mecanismo de difusión de sal es usualmente muy lento. Por ejemplo, el tiempo necesario para llegar al equilibrio de sal en quesos blandos es de aproximadamente 1 a 2 semanas mientras que en quesos semiduros puede demorar varios meses (Floury et al., 2010). Para solucionar los problemas asociados con la distribución heterogénea se pueden usar otros procesos de salado: el queso Cheddar es salado por adición directa de sal a la masa de cuajada (salado en masa) y sobre esta variedad se realizaron los primeros trabajos en los que a distribución de sal se refiere (McDowall y Whelan, 1932; Hoecker y Hammer, 1944; Morris, 1961; Breene et al., 1965; Fox, 1974; Gilles, 1976; Sutherland, 1977; Morris et al., 1985). También se ha estudiado la distribución de sal y otros parámetros durante el salado y la maduración de quesos tipo Manchego utilizando la impregnación a vacío (Andrés et al., 1997; Guamis et al., 1997; Chiralt et al., 2001; Pavia et al., 2000a; Chiralt y Fito, 1997; González et al., 1999;; González-Martínez et al., 2001, 2002) y en queso Minas (queso brasileiro), salado también por impregnación al vacío, usando una solución coloreada para visualizar diferentes aspectos del salado (Hofmeister et al., 2005). También ha sido descrito el salado acústico (Sánchez et al., 1999, 2000) y se ha estudiado el efecto del ultrasonido en el transporte de NaCl y agua durante el salado en salmuera de queso Mahón. El transporte de NaCl y agua en queso Gouda y queso tipo Manchego salados ayudado por altas presiones también ha sido investigado por Messens et al. (1999) y Pavia et al. (2000b) respectivamente.

I.4.3.2. SALADO EN MASA

En el caso de los quesos salados en seco por mezcla de sal con cuajada, el cloruro de sodio es agregado a la cuajada fresca para limitar la acción de las bacterias del fermento que pueden reducir el pH hasta valores inaceptablemente bajos, ayudar a la expulsión del suero inmediatamente después del troceado de la cuajada así como a mejorar el sabor (Everett y Auty, 2008).

Tradicionalmente, la sal se agrega a la cuajada troceada y se mezcla manualmente, pero actualmente el proceso se suele realizar mecánicamente, permitiendo un mejor control de la cantidad de sal agregada y de su distribución (Fox et al., 2000).

En este tipo de salado esencialmente ocurren los mismos mecanismos de absorción de sal que suceden en los quesos salados por inmersión en salmuera. Algunos de los cristales de sal seca distribuidos sobre la superficie de cuajada troceada o molida se disuelven en la superficie húmeda y difunden lentamente hacia el interior que tiene una corta distancia. Esto causa un flujo de suero desde el interior del grano de cuajada hacia la superficie que disuelve los cristales de sal remanentes y crea una salmuera sobresaturada alrededor de cada gránulo de cuajada siempre que la mezcla de sal y cuajada sea adecuada. Debido a la relativamente gran superficie en relación



al volumen de la cuajada, la incorporación de sal es muy rápida comparada con quesos salados por inmersión en salmuera (Guinee, 2004).

Cuando se salan las pequeñas piezas de cuajada, la concentración de NaCl alcanza rápidamente un valor suficientemente elevado en toda la pieza que retarda el crecimiento de las bacterias del fermento, por lo tanto el pH final de la cuajada salada está cerca del valor deseado para el queso recién elaborado (Fox et al., 2000). Si bien el crecimiento de las bacterias del fermento es mínimo después del salado, el metabolismo de la lactosa continúa y la concentración de ácido láctico aumenta, sin embargo la disminución de pH es mucho menor que la esperada por el aumento de ácido láctico producido, debido a la capacidad buffer de la cuajada láctea (Fox et al., 2000).

Según Fox et al. (2000) debería ser posible lograr un control muy preciso y uniforme de la concentración de sal en el salado en seco en la masa de cuajada. Sin embargo, si la distribución de sal es inicialmente pobre, no se alcanza una distribución uniforme en el tiempo de vida del queso. Y aún cuando esté debidamente mezclado y medido, las variaciones en la concentración de sal van a ocurrir influenciada por la diversidad de factores que afectan la incorporación de sal a la cuajada.

Algunos de los principales factores estudiados en quesos Cheddar (tipo de queso que utiliza el salado en masa para su elaboración) que afectan la absorción de sal son (Fox et al., 2000):

- No existe una relación lineal entre la sal absorbida y la cantidad de sal agregada.
- La sal se pierde en el suero expulsado de la cuajada debido a la sinéresis causada por la misma sal. El volumen de suero expulsado aumenta de forma lineal con la cantidad de sal agregada.
- La cantidad de sal que se pierde en el suero aumenta ligeramente con la temperatura de salado.
- El incremento del tiempo entre el salado y mezclado de la cuajada tiene un pequeño efecto en el volumen de suero liberado pero reduce la cantidad de sal que se pierde y por lo tanto aumenta el contenido de sal y de sal en agua de los quesos.
- El nivel de sal que se pierde aumenta cuando el contenido de humedad de la cuajada se incrementa.
- Mayores pérdidas de sal se producen en cuajadas de mayor acidez que en las de menor acidez.
- El tamaño de los cristales de sal tiene poco efecto en la retención de la sal. La retención de sal aumenta cuando el tamaño de la partícula de cuajada disminuye.

La sal está bastante uniformemente distribuida en los quesos salados en seco por mezcla de gránulos de cuajada con sal (Guinee, 2004). Sin embargo, en contraste con el salado en salmuera o el salado en seco superficial, llegar al equilibrio de la concentración de sal es un proceso lento y rara vez o nunca se alcanza (Morris et al., 1985). Así, pueden ocurrir durante el proceso de maduración de los quesos variaciones significativas en la concentración de sal intra e interbloques de cuajada, dando lugar a considerables variaciones en la velocidad de maduración y calidad de los quesos (Guinee y Fox, 2004). Estos hallazgos sugieren que el movimiento de sal y agua a través de las fronteras de los gránulos de cuajada y, por lo tanto, en toda la masa del queso, aunque existan gradientes de concentración, está inhibido por (Guinee, 2004):

- capas de proteínas precipitadas (debido al salting-out de la sal) sobre la superficie de los gránulos individuales, que bloquea la sal dentro de los mismos;
- la formación de micro espacios entre los gránulos de cuajada adyacentes, que rompen la continuidad del gel de caseína/agua formado en el que está disuelta la sal, y/o;
- carecer de un gradiente continuo de concentración de sal con un proceso de difusión impedido.

Sin lugar a dudas, un más coherente nivel y distribución de sal puede ser obtenido por (Guinee, 2004):

- la producción de cuajadas con una composición más estandarizada (ej.: mismo nivel de proteína o relación proteína/grasa)
- un proceso de elaboración más controlado, regulando las distintas etapas de proceso (ej.: nivel de renina o starter en proporción con el nivel de caseína, pH de la leche, en el desuerado y en el mezclado, firmeza en el troceado, rapidez del troceado con respecto al desuerado)
- un dispositivo mecánico de mezclado de la sal con la cuajada más eficiente
- mantener un tamaño de corte regular de la cuajada para asegurar la uniformidad de los gránulos
- mejor control sobre las condiciones de temperatura/humedad del lugar de almacenamiento de la sal para asegurar una distribución uniforme de sal.

I.4.3.3. SALADO SUPERFICIAL

Otro método de salado es el que se realiza por distribución manual de sal en la superficie de la cuajada moldeada. Este método de salado en seco produce alta variabilidad en el contenido de sal del queso (Todaro et al., 2011).

La cuajada moldeada puede ser considerada como una gran partícula de cuajada del método de salado antes descrito. Por lo tanto la solubilización de los cristales de sal sobre la superficie es también un pre-requisito para la absorción de sal en este método. El flujo de agua desde el queso hacia la superficie crea una capa de solución sobresaturada de NaCl y la absorción de sal se produce luego de un proceso de difusión obstaculizado (Guinee, 2004).

En estos quesos existe un gran gradiente de concentración de sal entre la superficie y el centro de la pieza y un gran gradiente de humedad en la dirección opuesta. Debido a que la difusión de sal desde la corteza al interior es lenta, estos gradientes desaparecen lentamente alcanzándose el equilibrio durante la maduración. El tiempo requerido para el equilibrio depende del tipo de queso, la composición, el tamaño, la forma y las condiciones de la maduración (Guinee, 2004).

Cuando la sal seca se frota sobre el queso, se forma una corteza. La corteza es baja en humedad, alta en contenido de sal y las caseínas forman una red muy densa. La corteza ralentiza la pérdida de humedad del resto del queso y el agua permanece atrapada en la estructura de la cuajada (Johnson y Law, 2010). Esto se debe a la formación sobre la superficie del queso de una barrera que impide el flujo de salida de agua (Everett y Auty, 2008). El movimiento de agua en Ragusano,



un queso siciliano salado en salmuera, es impedido por la formación de una densa capa de proteína deshidratada sobre la superficie del queso, esto se pudo observar por SEM (Melilli et al., 2003). Este efecto es mayor con altos niveles de sal y largos períodos de salado en salmuera (Melilli et al., 2005). El agua no puede moverse fácilmente a través de la red de caseína densa pero tampoco puede la sal.

La fuerte correlación positiva que existe entre el contenido de humedad y el coeficiente de difusión sugiere que el equilibrio en la concentración de sal en quesos salados en seco superficialmente, se alcanzará más rápidamente durante la maduración cuanto mayor sea el contenido de humedad de los mismos (Guinee, 2004).

Aunque todavía no hay evidencia científica reportada, las condiciones de humedad relativa, velocidad de circulación del aire y frecuencia de volteo de los quesos durante la maduración, posiblemente alteren la velocidad con la que se alcanza el equilibrio en la concentración de agua y de sal como consecuencia de variaciones en el contenido de humedad a lo largo del queso (Guinee, 2004).

I.4.4. EL PROCESO DE MADURACIÓN

La maduración es un proceso continuo durante el cual se van desarrollando las características organolépticas más importantes del queso, debido tanto a la pérdida de agua como a la gran variedad de procesos bioquímicos que tienen lugar -como la glicólisis, lipólisis y proteólisis-, cuyos respectivos productos ejercen una influencia considerable sobre las características sensoriales del queso, como la textura, el sabor y el aroma (Collins et al., 2003; McSweeney et al., 2006).

En procesos como el secado o maduración, que inducen a la transferencia de agua y pérdida de peso, el conocimiento en profundidad de los mecanismos de transferencia de masa contribuye de manera significativa no sólo a reducir los costos de operación, sino también a mejorar la calidad final del producto. Por lo tanto, los modelos matemáticos que describen el proceso de transferencia de masa son necesarios para la optimización y el diseño de ingeniería, con el fin de adquirir un conocimiento y manejo adecuado del proceso, lo que podría permitir un mejor control de efectos indeseables (Castell-Palou et al., 2011). En el caso de la industria quesera, la maduración es el paso más largo de la fabricación de quesos, donde se produce una pérdida importante de agua. Durante este proceso de secado, el agua se difunde desde la superficie húmeda hacia la corriente de aire. Al mismo tiempo que se retira el agua de la superficie, ésta difunde desde el interior del sólido hacia la superficie (McMinn y Magee, 1999). En este sentido, la difusividad afecta el crecimiento de microorganismos, ya que controla el movimiento de agua a la superficie de los alimentos y el desarrollo de perfiles internos de humedad. La actividad de agua superficial, que afecta fuertemente la proliferación microbológica, se determina por el equilibrio entre evaporación del agua y el movimiento interno de agua para la superficie (Trujillo et al., 2007).

Durante la maduración, el nivel de sal también tiene un efecto importante sobre el crecimiento microbiano y, junto a las actividades enzimáticas y los cambios bioquímicos, determinan el sabor,

aroma y textura de los quesos (Guinee y Fox, 2004; Ardö et al. 2014). Como resultado, la distribución de sal influye en la calidad general de queso.

Los cambios que se producen en la textura y propiedades físicas del queso durante la maduración dependen de su composición y de la extensión de los procesos bioquímicos, siendo la proteólisis el factor que más influye en la textura, debido a la hidrólisis de las caseínas y al aumento de la capacidad de retención de agua de la cuajada. La proteólisis es el proceso enzimático mediante el cual la caseína, proteína mayoritaria del queso, se hidroliza a compuestos de menor peso molecular como péptidos y aminoácidos libres. Por otro lado, la evolución del flavor durante la maduración del queso ha sido atribuida, principalmente, a la formación de compuestos volátiles (ácidos grasos de cadena corta y sus subproductos) generados en la lipólisis, siendo ésta la transformación de triglicéridos en glicéridos parciales y ácidos grasos libres, además de otros compuestos asociados al aroma de los quesos (Awad, 2006; McSweeney et al., 2006; Poveda y Cabezas, 2006; Hernández et al., 2009).

Los fenómenos proteolíticos pueden dividirse en proteólisis primaria y secundaria. La proteólisis primaria corresponde a la hidrólisis de caseínas, liberando péptidos de distinto tamaño. Se produce como resultado de la acción del cuajo (quimosina y pepsina, quimosina o cuajo vegetal obtenido del cardo), de las proteasas nativas de la leche (plasma) y en menor medida de las proteasas de las bacterias lácticas del fermento. La proteólisis secundaria convierte estos péptidos en aminoácidos libres y estos sirven de sustrato para la producción de otras sustancias sápidas como aminos, tioles y tioésteres. Los microorganismos presentes en el queso, tanto bacterias lácticas como mohos y levaduras, son los principales responsables de la proteólisis secundaria. Algunas otras bacterias, como las propiónicas y micrococos, pueden tener un efecto importante en algunos quesos.

La hidrólisis de las proteínas del queso además de ser de vital importancia en el desarrollo de la textura apropiada también influye sobre la calidad organoléptica de los quesos madurados, ya que sus productos de degradación: aminoácidos y péptidos, tienen una considerable influencia en las características sensoriales de los quesos (González de Llano et al., 1991; Urbach, 1993). La proteólisis en los quesos está afectada por una multitud de factores incluidos la actividad residual del coagulante, las proteasas nativas de la leche y las proteasas y peptidasas del fermento, el pH, la relación caseína:humedad y sal:humedad y la temperatura de maduración (Farkye et al., 1991; Hayaloglu et al., 2004). Debido a su importancia en las propiedades del queso, la evaluación de la proteólisis tiene una gran relevancia en temas relacionados con la calidad, la autenticidad y el control de procesos (Coker et al., 2005).

La proteólisis se estudia como un índice de maduración del queso (Farkye y Fox, 1990; Khalid y Marth, 1990) debido a que es la más compleja e importante de los principales eventos que se producen durante la maduración de la mayoría de los quesos (González de Llano et al., 1991; McSweeney y Sousa, 2000). El grado de proteólisis varía entre los distintos tipos de queso, desde las variedades con poca proteólisis como el Mozzarella, a aquellas otras como los quesos azules madurados por mohos, donde la proteólisis es muy intensa.

El efecto de la sal durante la proteólisis no está claro. Estudios realizados en queso Mozzarella han reportado que la sal no afecta la cantidad de péptidos solubles (Guinee et al., 2000) o la



proporción de hidrólisis de α_{s1} -caseína o β -caseína (Farkye et al., 1991), sin embargo otros estudios han reportado que la sal aumenta la proteólisis (Lawrence et al., 1987; Joshi et al., 2002) y en otro trabajo se encontró que el aumento del contenido de sal en el queso reduce ligeramente la velocidad y extensión de la proteólisis en todas las etapas de maduración (Hayaloglu et al., 2002).

La amplia información recopilada en quesos de leche bovina no siempre puede ser transferida a los quesos de leche caprina debido a las diferencias en las propiedades químicas y físicas de las leches (Park, 2007; Park et al., 2007) que dan a los quesos caprinos sabores y texturas características (Park y Drake, 2005; Van Hekken et al., 2004, 2007). La relación de α_{s1} -caseína (CN) a β -CN es menor en la leche caprina siendo la β -CN la proteína predominante (Clark y Sherbon, 2000; Pierre et al., 1998) que se traduce en grandes micelas de caseína (Tziboula y Horne, 1999) y altera las propiedades de coagulación de los quesos (Clark y Sherbon, 2000; Pierre et al., 1998). Aunque las caseínas caprinas son degradadas por enzimas de la misma manera durante la maduración (Trujillo et al., 1995, 1997a, b), los perfiles de proteína-peptido de la proteólisis resultante son únicos para quesos caprinos (Park y Jin., 1998; Van Hekken et al, 2004, 2007).

El grado de proteólisis se evalúa mediante la medición de los compuestos nitrogenados solubles en diversos disolventes, empleando métodos clásicos: por Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) y por electroforesis en gel de poliacrilamida con urea alcalina (urea-PAGE), entre otros métodos analíticos. Se han realizado muchos estudios para determinar los índices de proteólisis en quesos de leche de cabra, incluyendo tanto métodos clásicos que incluyen las fracciones de nitrógeno y el total de aminoácidos libres (Olarde et al., 2000; Serhan et al., 2010; Delgado et al., 2011) como técnicas modernas tales como: Cromatografía de intercambio catiónico para el fraccionamiento de caseína (Moatsu et al., 2004), Electroforesis Capilar en zona (Brambilla et al., 2011; Valenti et al., 2012), RP-HPLC para la separación y cuantificación de las fracciones de caseínas (Bonfatti et al., 2008; Clark y Sherbon, 2000; Montalbano et al., 2014), Enfoque Isoeléctrico (IEF) y RP-HPLC acoplado con espectrometría de masas por ionización electrospray (ESI-MS) para analizar las fracciones de proteínas y el polimorfismo de caseínas de leche de cabra (Moatsou et al., 2006, 2008), Electroforesis Capilar (EC) para la determinación cuantitativa de caseínas (Gómez-Ruiz et al., 2004) y Electroforesis en gel de poliacrilamida, análisis de perfil peptídico por HPLC y determinación de aminoácidos libres por HPLC (Mallatou et al., 2004; Pino et al., 2009; Bontinis et al., 2012).

Por otra parte la lipólisis no es un fenómeno predominante en la maduración de la mayoría de los quesos, a excepción de los madurados por mohos y algunas variedades de quesos elaborados con pastas de cuajo (Fox et al., 1996). Los productos que se generan a partir de la grasa de leche son ácidos grasos libres, algunos de los cuales son volátiles y contribuyen en gran medida al aroma del queso. Además, son precursores de otros compuestos involucrados en el aroma como alcoholes, ésteres etílicos, metílicos, aldehídos y metilcetonas (McSweeney y Sousa, 2000).

La grasa está involucrada con el rendimiento quesero, la firmeza, el color y el sabor de los productos lácteos de cabra.

Los lípidos son componentes vitales de nuestra dieta ya que son fuente de energía y ácidos grasos (AG) esenciales. Se sabe que algunos AG en la dieta están relacionados como factores positivos o

negativos que influyen en la salud humana (Ribeiro y Ribeiro, 2010). Por ejemplo, el consumo de grasas saturadas está muy correlacionado con un aumento del riesgo de la obesidad, aterosclerosis, enfermedades de la arteria coronaria y presión arterial elevada (Watts et al., 1996; Van Horn y Ernst, 2001). En los últimos años, se ha vuelto más relevante el conocimiento sobre el contenido de grasa de los productos lácteos y esto ha conducido al desarrollo de diferentes estrategias nutricionales para mejorar la composición en AG de productos lácteos como el queso (Vera et al., 2009; Toro-Mujica et al., 2011). La producción de queso con una mejor composición de AG podría significativamente fomentar el desarrollo de los quesos de la región y aumentar la rentabilidad económica de los productores.

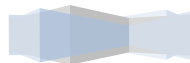
Los quesos de los rumiantes poseen algunos AG que tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana, tales como vaccénico (C18:1 t11) y los ácidos linoleicos conjugados (CLA), representado principalmente por el isómero trans-11 cis-9 (ácido ruménico, C18:2 c9, t11) (Aldai et al., 2013). Los CLA han demostrado numerosos efectos biológicos beneficiosos en modelos animales y en seres humanos (Kelly, 2001). Las fuentes dietéticas de los rumiantes, como la leche, queso y carne contienen más CLA que los alimentos de origen no rumiante (Bessa et al., 2000).

El perfil de ácidos grasos de la leche de los rumiantes puede verse afectado por diferentes factores como la especie animal, la etapa de lactancia, la alimentación y la genética (Vargas-Bello-Pérez y Garnsworthy, 2013). Según Bernard et al. (2008), la nutrición es el principal factor ambiental que regula la síntesis de grasa de la leche y la composición de ácidos grasos en rumiantes.

Se han llevado a cabo algunos estudios sobre la composición de la grasa de leche de las especies caprinas y ovinas. Ellos se han centrado principalmente en sus efectos como componentes de la dieta (Chilliard et al., 2000) o su variación con la estación del año (Nudda et al., 2005). Las publicaciones en cuanto a la determinación del contenido de CLA en la leche de cabra son más bien limitadas, si se compara con la información disponible para la leche de vaca. Por otra parte, la grasa del queso de cabra está menos estudiada, teniendo en cuenta tanto la composición de AG como el contenido de CLA (Cossignani et al., 2014). Algunos autores informaron que los factores genéticos como la raza, pueden afectar los niveles de CLA en la grasa de la leche (Tsiplakou et al., 2008), mientras que los procesos tecnológicos no parecen alterar significativamente el contenido de CLA (Rodríguez-Alcalá et al., 2009).

Los ácidos grasos hexanoico, octanoico y decanoico han sido considerados, durante mucho tiempo, responsables del aroma característico de los quesos de cabra, dando lugar a los términos caproico, caprílico y cáprico para estos ácidos grasos (Sánchez-Macías et al., 2011).

Durante el proceso de maduración, han sido relativamente bien estudiados los procesos de proteólisis (Fox, 1989; Lawrence et al., 1987; Guinee et al., 2000; Farkye et al., 1991; Lawrence et al., 1987; Joshi et al., 2002; Hayaloglu et al., 2013a, b; Sihufe et al., 2010) y la producción de aminoácidos (Kosikowsky, 1951; González de Llano et al., 1991; Resmini et al., 1993; Puchades et al., 1989; Pinho et al., 2001; Polo et al., 1985), la lipólisis (Bontinis et al., 2012; Addis et al., 2005; Barzaghi et al., 1997; Buffa et al., 2001; Freitas y Malcata, 1998; Juan et al., 2015) y la fermentación de la lactosa (Thomas y Pearce, 1981; McCarthy et al., 2015). Por el contrario, mucho menos se sabe sobre la evolución de la fracción de sal y agua, aunque esta fracción tenga



un considerable rol en la formación de la textura y en las propiedades reológicas de los quesos (Gaucheron et al., 1999).

I.5. BIBLIOGRAFÍA

Addis, M.; Piredda, G.; Pes, M.; Di Salvo, R.; Scintu, M. F.; Pirisi, A. (2005). Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano cheese. *International Dairy Journal*, 15, 563–569.

Aguilar Criado, E.; Sacco dos Anjos, F.; Velleda Caldas, N. (2011). Productos locales, calidad y diversificación: nuevas estrategias de desarrollo en el mundo rural de España y Brasil. *Estudios sociológicos*, 189-214.

Aldai, N.; de Renobales, M.; Barron, L. J. R.; Kramer, J. K. (2013). What are the trans fatty acids issues in foods after discontinuation of industrially produced trans fats? Ruminant products, vegetable oils, and synthetic supplements. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(12), 1378-1401.

Álvarez, R.; Paz, R. (1998). Tipos caprinos lecheros en desarrollo: Curvas de Lactación y Niveles de Producción en Santiago del Estero-Argentina. Un abordaje metodológico. *Revista Archivos de Zootecnia*, 47(178), 649-658.

Ancasi, E. G.; Maldonado, S.; Oliszewski, R. (2015). Evaluación de la diversidad de bacterias lácticas y levaduras en quesos frescos de cabra de la quebrada de Humahuaca. *Bistua*, 13(1), 3-15.

Andrés, A.; Panizzolo, L.; Camacho, M. M.; Chiralt, A.; Fito, P. (1997). Distribution of salt in Manchego type cheese after brining. *In: Engineering & Food at ICEF*, R. Jowitt (Editor), Academic Press, Sheffield, pp. 133–166.

Ardö, Y.; Skeie, S.; Guinee, T. (2014). Salt in cheese ripening. *International Dairy Federation Bulletin*, 1401, 21-29.

Arocena, J. (1999). Por una lectura compleja del actor local en los procesos de globalización. *Desarrollo local en la globalización*. Marsiglia, J. (Ed.). Ediciones CLAEH, Uruguay.

Awad, S. (2006). Texture and flavour development in Ras cheese made from raw and pasteurised milk. *Food Chemistry*, 97(3), 394-400.

Barzaghi, S.; Davoli, E.; Rampilli, M.; Contarini, G. (1997). Lipolysis in Provolone cheese: effect of rennet-paste. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 48, 146–156.

Bernard, L.; Leroux, C.; Chilliard, Y. (2008). Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. *In: Bioactive components of milk*. Springer, New York, pp. 67-108.



Bessa, R. J. B.; Santos-Silva, J.; Ribeiro, J. M. R.; Portugal, A. V. (2000). Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63(3), 201-211.

Bona, E.; da Silva, R. S. S.; Borsato, D.; Silva, L. H. M.; de Souza Fidelis, D. A. (2007). Multicomponent diffusion modeling and simulation in prato cheese salting using brine at rest: The finite element method approach. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 771-778.

Bonfatti, V.; Grigoletto, L.; Cecchinato, A.; Gallo, L.; Carnier, P. (2008). Validation of a new reversed-phase high-performance liquid chromatography method for separation and quantification of bovine milk protein genetic variants. *Journal of Chromatography A*, 1195(1), 101-106.

Bontinis, T. G.; Mallatou, H.; Pappa, E. C.; Massouras, T.; Alichanidis, E. (2012). Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Ruminant Research*, 105(1), 193-201.

Brambilla, A.; Feligni, M.; Enne, G. (2011). α_{S1} -casein in goat milk: identification of genetic variants by Capillary Zone Electrophoresis compared to Isoelectric Focusing. *Italian Journal of Animal Science*, 2(1), 100-102.

Breene, W. M.; Olson, N. F.; Price, W. V. (1965). Salt absorption by Cheddar cheese curd. *Journal of Dairy Science*, 48 (5), 621-624.

Brodziak, A.; Król, J.; Barłowska, J.; Litwińczuk, Z. (2014). Effect of production season on protein fraction content in milk of various breeds of goats in Poland. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 410-419.

Buffa, M.; Guamis, B.; Pavia, M.; Trujillo, A. J. (2001). Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11, 175-179.

Caldentey Albert, P.; Gómez Muñoz, A. C. (1996). Productos típicos, territorio y competitividad. *Agricultura y sociedad*, (80), 57-82.

Castell-Palou, A.; Rosselló, C.; Femenia, A.; Bon, J.; Simal, S. (2011). Moisture profiles in cheese drying determined by TD-NMR: Mathematical modeling of mass transfer. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 525-531.

Castillo, I.; Calvo, M. V.; Alonso, L.; Juárez, M.; 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(2), 590-598.

Catalano, R.; González, C.; Mantecon Ruiz, A. (1999). Producción de leche y elaboración de quesos de rumiantes menores. Facultad de Ciencias Veterinarias (Ed). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Chavez, M. F.; Alcoba, L. N. (2014). La agricultura familiar en el Noroeste Argentino: provincia de Jujuy. Primera Edición, INTA Ediciones, Posta de Hornillos, Jujuy, Argentina.



<http://inta.gob.ar/documentos/la-agricultura-familiar-en-el-noroeste-argentino-jujuy/at_multi_download/file/Agricultura%20Familiar%20JUJUY-INTA%20IPAF%20NOA.pdf>
Último acceso: 09/08/2015.

Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Mansbridge, R. M.; Doreau, M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales de Zootechnie*, 49 (3), 181-205.

Chiralt, A.; Fito, P. (1997). Salting of Manchego-type cheese by vacuum impregnation. *Food Engineering* 2000, 215-230.

Chiralt, A.; Fito, P.; Barat, J. M.; Andres, A.; González-Martínez, C.; Escriche, I.; Camacho, M. M. (2001). Use of vacuum impregnation in food salting process. *Journal of Food Engineering*, 49(2), 141-151.

Clark, S.; Sherbon, J. W. (2000). Genetic variants of α_{s1} -CN in goat milk: breed distribution and associations with milk composition and coagulation properties. *Small Ruminant Research*, 38(2), 135-143.

Coker, C. J.; Crawford, R. A.; Johnston, K. A.; Singh, H.; Creamer, L. K. (2005). Towards the classification of cheese variety and maturity on the basis of statistical analysis of proteolysis data—a review. *International Dairy Journal*, 15(6), 631-643.

Collins, Y. F.; McSweeney, P. L. H.; Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841-866.

Cossignani, L.; Giua, L.; Urbani, E.; Simonetti, M. S.; Blasi, F. (2014). Fatty acid composition and CLA content in goat milk and cheese samples from Umbrian market. *European Food Research and Technology*, 239(6), 905-911.

Delgado, F. J.; González-Crespo, J.; Cava, R.; Ramírez, R. (2011). Proteolysis, texture and colour of a raw goat milk cheese throughout the maturation. *European Food Research and Technology*, 233(3), 483-488.

Escriche, I.; Fuentes, C.; González, C.; Chiralt, A. (1999). Aroma development in Manchego type cheese as affected by salt content and salting method. *Journal of Chromatography and Analysis*, 13: 827-836.

Everett, D. W.; Auty, M. A. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, 18(7), 759-773.

Farkye, N. Y.; Fox, P. F. (1990). Objective indices of cheese ripening. *Trends in Food Science & Technology*, 1, 37-40.

Farkye, N. Y.; Kiely, L. J.; Allshouse, R. D.; Kindstedt, P. S. (1991). Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 74(5), 1433-1438.

Floury, J.; Jeanson, S.; Aly, S.; Lortal, S. (2010). Determination of the diffusion coefficients of small solutes in cheese: A review. *Dairy science & technology*, 90(5), 477-508.

Fox, P. F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy science*, 72(6), 1379-1400.

Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H.; Cogan, T. M.; Guinee, T. P. (2000). Salting of Cheese Curd. *In: Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD, pp. 153-168.

Fox, P. F.; O'connor, T. P.; McSweeney, P. L. H.; Guinee, T. P.; O'brien, N. M. (1996). Cheese: physical, biochemical, and nutritional aspects. *Advances in food and nutrition research*, 39(163), 328.

Franciosi, E.; Settanni, L.; Cologna, N.; Cavazza, A.; Poznanski, E. (2011). Microbial analysis of raw cows' milk used for cheese-making: influence of storage treatments on microbial composition and other technological traits. *World journal of microbiology and biotechnology*, 27(1), 171-180.

Freitas, A. C.; Malcata, F. X. (1998). Lipolysis in Picante cheese: influence of milk type and ripening time on free fatty acid profile. *Lait*, 78, 251-258.

French, M. (1970). Observations on the goat. *FAO Agricultural Studies*, 80. FAO, Roma, Italia.

Gaucheron, F.; Le Graët, Y.; Michel, F.; Briard, V.; Piot, M. (1999). Evolution of various salt concentrations in the moisture and in the outer layer and centre of a model cheese during its brining and storage in an ammoniacal atmosphere. *Lait*, 79, 553-566.

Gerla P. E., Rubiolo A. C. (2003). A model for determination of multicomponent diffusion coefficients in foods. *Journal of Food Engineering*, 56, 401-410.

Geurts, T. J.; Walstra, P.; Mulder, H. (1974). Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 28, 102-129.

Geurts, T. J.; Walstra, P.; Mulder, H. (1980). Transport of salt and water during salting of cheese. 2. Quantities of salt taken up and of moisture lost. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 34, 229-254.

Gilles, J. (1976). Control of salt on moisture levels in Cheddar cheese. *New Zealand journal of dairy science and technology*, 11, 219-221.

Giroux, H. J.; Bouchard, C.; Britten, M. (2014). Combined effect of renneting pH, cooking temperature, and dry salting on the contraction kinetics of rennet-induced milk gels. *International Dairy Journal*, 35(1), 70-74.

Goldsmith, A. (1985). The private sector and rural development: can agribusiness help the small farmer? *World Development*, 13 (10), 1125-1138.

Gómez-Ruiz, J. Á.; Miralles, B.; Agüera, P.; Amigo, L. (2004). Quantitative determination of α_{s2} - and α_{s1} -casein in goat's milk with different genotypes by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1054(1), 279-284.

González, C.; Fuentes, C.; Andrés, A.; Chiralt, A.; Fito, P. (1999). Effectiveness of vacuum impregnation brining of Manchego-type curd. *International Dairy Journal*, 9(2), 143-148.



- González de Llano, D.; Polo, M. C.; Ramos, M.; Martín-Alvárez, P. (1991). Free and total amino acids in the non-protein fraction of artisanal blue cheese during ripening. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 19, 529–532.
- González-Martínez, C.; Pavia, M.; Chiralt, A.; Ferragut, V.; Fito, P.; Guamis, B. (2001). Cheese salting by vacuum impregnation. *In: Osmotic dehydration & vacuum impregnation: Applications in Food Industries*. Fito, P.; Chiralt, A.; Barat, J. M.; Spiess, W. E. L.; Behnlian, D. (Editores), CRC Press, pp. 145-154.
- González-Martínez, C.; Chafer, M.; Fito, P.; Chiralt, A. (2002). Development of salt profiles on Manchego type cheese during brining. Influence of vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, 53(1), 67-73.
- Greppi, G. F.; Roncada, P.; Fortin, R. (2008). 4 Protein Components of Goat's Milk. *In: Cannas, A., Publina, G. (Eds.). Dairy goats feeding and nutrition*. CAB International, Oxford shire, pp 71–94.
- Gros, J. B.; Rüegg, M. (1987). Determination of the apparent diffusion coefficient of sodium chloride in model foods and cheese. *In: F. Jowitt, B. Escher, M. Kent, B. McKenna & M. Roques (Eds.), Physical properties of foods, vol 2, pp.251-297*. Elsevier, London.
- Guamis, B.; Trujillo, A. J.; Ferragut, V.; Chiralt, A.; Andres, A.; Fito, P. (1997). Ripening control of Manchego type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 7(2), 185-192.
- Guinee, T. P. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 99-109.
- Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1983). Sodium chloride and moisture changes in Romano-type cheese during salting. *Journal of Dairy Research*, 50, 511-518.
- Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1986). Transport of sodium chloride and water in Romano cheese slices during brining. *Food Chemistry*, 19(1), 49-64.
- Guinee, T. P.; Fox, P. F. (2004). Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. *In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects*, 3era ed. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P.(eds). Elsevier, London.
- Guinee, T. P.; Mulholland, E. O.; Mullins, C.; Corcoran, M. O. (2000). Effect of salting method on the composition, yield and functionality of low moisture Mozzarella cheese. *Milchwissenschaft*, 55, 135-138.
- Hayaloglu, A. A.; Guven, M.; Fox, P. F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese. *International Dairy Journal*, 12(8), 635-648.
- Hayaloglu, A. A.; Guven, M.; Fox, P. F.; Hannon, J. A.; McSweeney, P. L. H. (2004). Proteolysis in Turkish White-brined cheese made with defined strains of *Lactococcus*. *International Dairy Journal*, 14(7), 599-610.

Hayaloglu, A. A.; Tolu, C.; Yasar, K. (2013a). Influence of goat breeds and starter culture systems on gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening. *Small Ruminant Research*, 113(1), 231-238.

Hayaloglu, A. A.; Yasar, K.; Tolu, C.; Sahingil, D. (2013b). Characterizing volatile compounds and proteolysis in Gokceada artisanal goat cheese. *Small Ruminant Research*, 113(1), 187-194.

Hernández, I.; Barrón, L. J. R.; Virto, M.; Pérez-Elortondo, F. J.; Flanagan, C.; Rozas, U.; Nájera, A. I.; Albisu, M.; Vicente, M. S.; de Renobales, M. (2009). Lipolysis, proteolysis and sensory properties of ewe's raw milk cheese (Idiazábal) made with lipase addition. *Food Chemistry*, 116(1), 158-166.

Hoecker, W. H.; Hammer, B. W. (1944). Salt migration in cheddar cheese curd and its effect on moisture content, ph, and bacterial content. *Journal of Food Science*, 9(4), 278-288.

Hofmeister, L. C.; Souza, J. A. R.; Laurindo, J. B. (2005). Use of dyed solutions to visualize different aspects of vacuum impregnation of Minas cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 38(4), 379-386.

Johnson, M.; Law, B. A. (2010). 2 The Origins, Development and Basic Operations of Cheesemaking Technology. *In: Technology of Cheesemaking*, Law, B. A. y Tamime, A. Y. (Editores), Segunda Edición, Wiley-Blackwell, pp. 68-96.

Joshi, N. S.; Muthukumarappan, K.; Dave, R. I. (2002). Role of soluble and colloidal calcium contents on functionality of salted and unsalted part-skim mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57(3), 203.

Juan, B.; Quevedo, J. M.; Zamora, A.; Guamis, B.; Trujillo, A. J. (2015). Lipolysis of cheeses made from goat milk treated by ultra-high pressure homogenization. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1034-1038.

Kaya, S. (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining. *Journal of Food Engineering*, 52(2), 155-159.

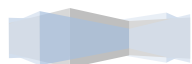
Kelly, G. S. (2001). Conjugated linoleic acid: a review. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 6(4), 367-382.

Khalid, N. M.; Marth, E. H. (1990). Lactobacilli—their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese: a review. *Journal of Dairy Science*, 73(10), 2669-2684.

Kosikowsky, F. V. (1951). The liberation of free amino acids in raw and pasteurized milk Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 34(3), 235-241.

Lara-Villoslada, F.; Olivares, M.; Xaus, J. (2005). The balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity. *Journal of dairy science*, 88(5), 1654-1660.

Lawrence, R. C.; Creamer, L. K.; Gilles, J. (1987). Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 70(8), 1748-1760.



- Liu, S.; Puri, V. M. (2008). pH spatial distribution model during ripening of Camembert cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 41(8), 1528-1534.
- Luna, J. A.; Bressan, J. A. (1986). Mass transfer during brining of Cuartirolo Argentino cheese. *Journal of Food Science*, 51(3), 829-831.
- Luna, J. A.; Bressan, J. A. (1987). Mass transfer during ripening of Cuartirolo argentino cheese. *Journal of Food Science*, 52(2), 308-311.
- Maggio, A.; Lizziero, M. (1999). Producción de leche caprina en el país. Situación actual, proyección, debilidades y fortalezas de la industria lechera. *En: Producción de Leche y elaboración de Quesos de Rumiantes Menores*. R. Catalano; C. González y A. Ruiz Mantecón (Eds), pp 24.
- Maldonado, S.; Bernal, R.; Burgos, L.; Santapaola, J. (2012). Production and commercialization of goat milk and cheese in northwest Argentina. In: *Goats: Habitat, breeding and management*. Garrote, D. and Arede, G. (Eds.). Nova Science Publishers. New York. pp.1-38.
- Mallatou, H.; Pappa, E. C.; Boumba, V. A. (2004). Proteolysis in Teleme cheese made from ewes', goats' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 14(11), 977-987.
- Masoud, W.; Jakobsen, M. (2005). The combined effects of pH, NaCl and temperature on growth of cheese ripening cultures of *Debaryomyces hansenii* and coryneform bacteria. *International Dairy Journal*, 15(1), 69-77.
- Maubecín, R. A. (1983). Proyecto para el mejoramiento de la producción caprina en las regiones de cuyo, centro y noroeste argentino. *Reunión Nacional de Producción caprina*. IDIA Suplemento, 39, 45-51.
- McCarthy, C. M.; Wilkinson, M. G.; Kelly, P. M.; Guinee, T. P. (2015). Effect of salt and fat reduction on the composition, lactose metabolism, water activity and microbiology of Cheddar cheese. *Dairy Science & Technology*, 1-25.
- McDowall, F. H.; Whelan, L. A. (1932). 55. The Distribution of Salt in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Research*, 4(01), 147-153.
- McMinn, W. A. M.; Magee, T. R. A. (1999). Principles, methods and applications of the convective drying of foodstuffs. *Food and Bioproducts Processing*, 77(3), 175-193.
- McSweeney, P. L. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144.
- McSweeney, P. L. H.; Hayaloglu, A. A.; O'Mahony, J. A.; Bansal, N. (2006). Perspectives on cheese ripening. *Australian Journal of Dairy Technology*, 61(2), 69-77.
- McSweeney, P. L.; Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293-324.



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), 1420-1438.

Messens, W.; Dewettinck, K.; Huyghebaert, A. (1999). Transport of sodium chloride and water in Gouda cheese as affected by high-pressure brining. *International Dairy Journal*, 9(8), 569-576.

Miceli, E.; Castagnasso, H.; Lara, J.; López, M.; Lacchini, R. (2007). Queso de Leche de Cabra: Variaciones Según su Cruzamiento. *En: V Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos*, Mendoza, Argentina.

Michaelidou, A. M. (2008). Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products. *Small Ruminant Research*, 79(1), 42-50.

Moatsou, G.; Moschopoulou, E.; Mollé, D.; Gagnaire, V.; Kandarakis, I.; Léonil, J. (2008). Comparative study of the protein fraction of goat milk from the Indigenous Greek breed and from international breeds. *Food chemistry*, 106(2), 509-520.

Moatsou, G.; Samolada, M.; Panagiotou, P.; Anifantakis, E. (2004). Casein fraction of bulk milks from different caprine breeds. *Food chemistry*, 87(1), 75-81.

Moatsou, G.; Vamvakaki, A. N.; Mollé, D.; Anifantakis, E.; Léonil, J. (2006). Protein composition and polymorphism in the milk of Skopelos goats. *Le Lait*, 86(5), 345-357.

Montalbano, M.; Tortorici, L.; Mastrangelo, S.; Sardina, M. T.; Portolano, B. (2014). Development and validation of RP-HPLC method for the quantitative estimation of α_{s1} -genetic variants in goat milk. *Food chemistry*, 156, 165-169.

Morris, T. A. (1961). Observations on the salting of Cheddar and Gouda cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 16(1), 31-32.

Morris, H. A.; Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1985). Salt diffusion in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 68, 1851-1858.

Nudda, A.; McGuire, M. A.; Battaccone, G.; Pulina, G. (2005). Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. *Journal of Dairy Science*, 88(4), 1311-1319.

Obschatko, E.; Foti, M.; Román, M. (2007). Los pequeños productores en la República Argentina: importancia en la producción agropecuaria y en el empleo en base al censo nacional agropecuario 2002. 2ª edición. SAGPyA-PROINDER.

Olarte, C.; Sanz, S.; Gonzalez-Fandos, E.; Torre, P. (2000). The effect of a commercial starter culture addition on the ripening of an artisanal goat's cheese (Cameros cheese). *Journal of applied microbiology*, 88(3), 421-429.

Oliszewski, R.; Guzmán, F.; González, S. N. (2014). Fabricación de quesos de cabra con adición de fermentos lácticos autóctonos iniciadores y adjuntos: impacto en el flavour. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 80, 48-52.



- Oliszewski, R.; Medina, R. B.; González, S. N.; Chaia, A. B. P. (2007). Esterase activities of indigenous lactic acid bacteria from Argentinean goats' milk and cheeses. *Food Chemistry*, 101(4), 1446-1450.
- Oliszewski, R.; Van Nieuwenhove, C.; González, S.; Pérez Chaia, A. B. (2006). Identificación y caracterización tecnológica de bacterias ácido lácticas aisladas de leche de cabra y quesos artesanales del noroeste argentino. *Revista Argentina Lactología*, 24, 47-58.
- Pajonk, A. S.; Saurel, R.; Andrieu, J. (2003). Experimental study and modeling of effective NaCl diffusion coefficients values during Emmental cheese brining. *Journal of Food Engineering*, 60(3), 307-313.
- Park, Y. W. (2007). Rheological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1), 73-87.
- Park, Y. W.; Drake, M. A. (2005). Effect of 3 months frozen-storage on organic acid contents and sensory properties, and their correlations in soft goat milk cheese. *Small Ruminant Research*, 58(3), 291-298.
- Park, Y. W.; Jin, Y. K. (1998). Proteolytic patterns of Caciotta and Monterey Jack hard goat milk cheeses as evaluated by SDS-PAGE and densitometric analyses. *Small Ruminant Research*, 28(3), 263-272.
- Park, Y. W.; Juárez, M.; Ramos, M.; Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*, 68(1), 88-113.
- Pavia, M.; Trujillo, A. J.; Guamis, B.; Ferragut, V. (2000a). Ripening control of salt-reduced Manchego-type cheese obtained by brine vacuum-impregnation. *Food Chemistry*, 70(2), 155-162.
- Pavia, M.; Trujillo, A. J.; Guamis, B.; Ferragut, V. (2000b). Effectiveness of high-pressure brining of Manchego-type cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 33(5), 401-403.
- Payne, M. R.; Morison, K. R. (1999). A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. *International Dairy Journal*, 9, 887-894.
- Paz, R. (2006a). ¿Desaparición o permanencia de los campesinos ocupantes en el noroeste argentino? Evolución y crecimiento en la última década. *Canadian Journal of Latin American and Caribbean Studies*, 31(61), 169-197.
- Paz, R.; Rodríguez, R.; González, V. (2006b). Desarrollo local y tipos de producciones. Trabajo y sociedad: Indagaciones sobre el empleo, la cultura y las prácticas políticas en sociedades segmentadas, 8, 5.
- Pierre, A.; Le Quéré, J. L.; Riaublanc, A.; Le Graët, Y.; Demaizères, D.; Michel, F. (1998). Composition and physico-chemical characteristics of goat milks containing the A or O α_{s1} -casein variants. *Le Lait*, 78(2), 191-202.



Pinho, O.; Ferreira, I. M.; Mendes, E.; Oliveira, B. M.; Ferreira, M. (2001). Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amine contents during storage of Azeitão cheese. *Food Chemistry*, 75(3), 287-291.

Pino, A.; Prados, F.; Galán, E.; McSweeney, P. L.; Fernández-Salguero, J. (2009). Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. *Food research international*, 42(3), 324-330.

Polo, C.; Ramos, M.; Sanchez, R. (1985). Free amino acids by high performance liquid chromatography and peptides by gel electrophoresis in Mahon cheese during ripening. *Food chemistry*, 16(2), 85-96.

Ponce De León-González, L.; Wendorff, W. L.; Ingham, B. H.; Jaeggi, J. J.; Houck, K. B. (2000). Influence of Salting Procedure on the Composition of Muenster-Type Cheese. *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1396-1401.

Poveda, J. M.; Cabezas, L. (2006). Free fatty acid composition of regionally-produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics. *Food Chemistry*, 95(2), 307-311.

Puchades, R.; Lemieux, L.; Simard, R. E. (1989). Evolution of free amino acids during the ripening of Cheddar cheese containing added lactobacilli strains. *Journal of Food Science*, 54(4), 885-888.

Quiroga Mendiola, M.; Longoni, A.; Chávez, F.; Alcoba, L.; Bilbao, L. (2013). Los Agricultores Familiares en el NOA. Aproximaciones a partir de de las encuestas F1 (PROINDER-PSA). *En: La Agricultura Familiar en la Argentina. Diferentes abordajes para su estudio.* Ramilo, D.; Prividera, G. (Eds), Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina. pp. 157-186.

Ramunno, L.; Longobardi, E.; Pappalardo, M.; Rando, A.; Di Gregorio, P.; Cosenza, G.; Mariani, P.; Pastore, N.; Masina, P. (2001). An allele associated with a non-detectable amount of α_{s2} -casein in goat milk. *Animal Genetics*, 32(1), 19-26.

Raynal-Ljutovac, K.; Lagriffoul, G.; Paccard, P.; Guillet, I.; Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small ruminant research*, 79(1), 57-72.

Renna, M.; Cornale, P.; Lussiana, C.; Malfatto, V.; Mimosi, A.; Battaglini, L. M. (2012). Fatty acid profile of milk from goats fed diets with different levels of conserved and fresh forages. *International journal of dairy technology*, 65(2), 201-207.

Resmini, P.; Hogenboom, J. A.; Pazzaglia, C.; Pellegrino, L. (1993). Free amino acids for the analytical characterization of Grana Padano cheese. *Scienza E Tecnica Lottiero Casearia*, 44, 7-19.

Ribeiro, A. C.; Ribeiro, S. D. A. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, 89(2), 225-233.

Rodríguez-Alcalá, L. M.; Harte, F.; Fontecha, J. (2009). Fatty acid profile and CLA isomers content of cow, ewe and goat milks processed by high pressure homogenization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(1), 32-36.



Sánchez, E. S.; Simal, S.; Femenia, A.; Benedito, J.; Rosselló, C. (1999). Influence of ultrasound on mass transport during cheese brining. *European Food Research and Technology*, 209(3-4), 215-219.

Sánchez, E. S.; Simal, S.; Femenia, A.; Rosselló, C. (2000). Effect of acoustic brining on the transport of sodium chloride and water in Mahon cheese. *European Food Research and Technology*, 212(1), 39-43.

Sánchez-Macías, D.; Morales-de la Nuez, A.; Moreno-Indias, I.; Hernández-Castellano, L. E.; Mendoza-Grimón, V.; Castro, N.; Argüello, A. (2011). Lipolysis and proteolysis profiles of fresh artisanal goat cheese made with raw milk with 3 different fat contents. *Journal of dairy science*, 94(12), 5786-5793.

Santapaola, J.; Andrés, A.; Maldonado, S.; Fernández, M. (2012). Application of the response surface analysis method to the study of salt and water profiles in goat's cheese salted in layers. *Journal of Food Process Engineering*, 35(3), 355-369.

Schejtman, A. (1994). Agroindustria y transformación productiva de la pequeña agricultura. *Revista de la CEPAL*, 53. CEPAL (Ed.), Santiago de Chile.

Scott, R.; Robinson, R. K.; Wilbey, R. A. (2002). *Fabricación de queso*, 2ª ed., Acribia S. A., Zaragoza, España.

Serhan, M.; Linder, M.; Hosri, C.; Fanni, J. (2010). Changes in proteolysis and volatile fraction during ripening of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Small Ruminant Research*, 90(1), 75-82.

Sihufe, G. A.; Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (2010). The influence of ripening temperature and sampling site on the proteolysis in Reggianito Argentino cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 247-253.

Silanikove, N.; Leitner, G.; Merin, U.; Prosser, C. G. (2010). Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Research*, 89(2), 110-124.

Sutherland, B. J. (1977). Some observations on salt and moisture concentration gradients in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 32, 17-18.

Taboada, N.; Núñez, M.; Medina, R.; López Alzogaray, M. S. (2014). Characterization and Technological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Argentinean Goat's Milk Products. *Food Biotechnology*, 28(2), 123-141.

Thomas, T. D.; Pearce, K. N. (1981). Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 16, 253.

Todaro, M.; Francesca, N.; Reale, S.; Moschetti, G.; Vitale, F.; Settanni, L. (2011). Effect of different salting technologies on the chemical and microbiological characteristics of PDO Pecorino Siciliano cheese. *European Food Research and Technology*, 233(6), 931-940.

Toro-Mujica, P.; García, A.; Gómez-Castro, A. G.; Acero, R.; Perea, J.; Rodríguez-Estévez, V.; Aguilar, C.; Vera, R. (2011). Technical efficiency and viability of organic dairy sheep farming systems in a traditional area for sheep production in Spain. *Small Ruminant Research*, 100(2), 89-95.

Trujillo, A. J.; Guamis, B.; Carretero, C. (1995). Proteolysis of goat β -Casein by Calf Rennet under Various Factors Affecting the Cheese Ripening Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(6), 1472-1478.

Trujillo, A. J.; Guamis, B.; Carretero, C. (1997a). Hydrolysis of caprine β -casein by plasmin. *Journal of dairy science*, 80(10), 2258-2263.

Trujillo, A. J.; Guamis, B.; Carretero, C. (1997b). Proteolysis of goat casein by calf rennet. *International Dairy Journal*, 7(8), 579-588.

Trujillo, F. J.; Wiangkaew, C.; Pham, Q. T. (2007). Drying modeling and water diffusivity in beef meat. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 74-85.

Tsiplakou, E.; Kominakis, A.; Zervas, G. (2008). The interaction between breed and diet on CLA and fatty acids content of milk fat of four sheep breeds kept indoors or at grass. *Small ruminant research*, 74(1), 179-187.

Turhan, M. (1996). Modeling of salt transfer in white cheese during short initial brining. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 50, 541-550.

Turhan, M.; Kaletunç, G. (1992). Modeling of Salt Diffusion in White Cheese during Long-Term Brining. *Journal of Food Science*, 57(5), 1082-1085.

Turner, K. W.; Lawrence, R. C.; Lelievre, J. (1986). Microbiological specification for milk for aseptic cheesemaking. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 21, 249-254.

Tziboula, A.; Horne, D. S. (1999). The role of α_{s1} -casein in the structure of caprine casein micelles. *International dairy journal*, 9(3), 173-178.

Urbach, G. (1993). Relations between cheese flavour and chemical composition. *International Dairy Journal*, 3(4), 389-422.

Valenti, B.; Pagano, R. I.; Avondo, M. (2012). Effect of diet at different energy levels on milk casein composition of Girgentana goats differing in CSN1S1 genotype. *Small Ruminant Research*, 105(1), 135-139.

Van Hekken, D. L.; Tunick, M. H.; Park, Y. W. (2004). Rheological and proteolytic properties of Monterey Jack goat's milk cheese during aging. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(17), 5372-5377.

Van Hekken, D. L.; Tunick, M. H.; Soryal, K. A.; Zeng, S. S. (2007). Proteolytic and Rheological Properties of Aging Cheddar-Like Caprine Milk Cheeses Manufactured at Different Times during Lactation. *Journal of food science*, 72(3), E115-E120.



- Van Horn, L.; Ernst, N. (2001). A summary of the science supporting the new National Cholesterol Education Program dietary recommendations: what dietitians should know. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(10), 1148-1154.
- Vandenbergh, E.; Choucharina, S.; Luca, S.; De Ketelaere, B.; De Baerdemaeker, J.; Claes, J. (2014). Spatio-temporal gradients of dry matter content and fundamental material parameters of Gouda cheese. *Journal of Food Engineering*, 142, 31-38.
- Vargas-Bello-Pérez, E.; Garnsworthy, P. C. (2013). Trans fatty acids and their role in the milk of dairy cows. *Ciencia e Investigación Agraria*, 40(3), 449-473.
- Vera, R. R.; Aguilar, C.; Lira, R. (2009). Differentiation of sheep milk and cheese based on quality and composition. *Ciencia e Investigación Agraria*, 36(3), 307-328.
- Watts, G. F.; Jackson, P.; Burke, V.; Lewis, B. (1996). Dietary fatty acids and progression of coronary artery disease in men. *The American journal of clinical nutrition*, 64(2), 202-209.
- Wróblewska, B.; Jęzdrychowski, L. (1999). Modification of allergenic properties of cow milk. Part I Characteristics of milk allergenicity. *Przemysł Spożywczy (Food Industry)*, 7, 20–21 (in Polish).
- Zhu, X.; Zhao, L.; Liu, S.; Huang, W.; Zhao, S. (2011). Experimental study and modeling NaCl mass transfer during Feta cheese ripening. *International Journal of Food Engineering*, 7(4).
- Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (1991). Average NaCl concentration in cheese for different volume ratios of brine and solid during salting. *Journal of Food Science*, 56(6), 1548-1551.
- Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (1994). Modeling NaCl and KCl movement in Fynbo cheese during salting. *Journal of Food Science*, 59(5), 976-980.



II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE
DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO
DE QUESO DE CABRA

II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO DE QUESO DE CABRA

II. 1 RESUMEN

Con el objetivo de estudiar la cinética de difusión para el salado seco, se determinaron experimentalmente los perfiles de sal y agua en muestras de cuajada de cabra durante el salado y su evolución con el tiempo. A partir de los resultados experimentales se estimó el coeficiente efectivo de difusión aplicando la ecuación de Fick para un cuerpo semi-infinito. Después de 24 horas de salado se encontraron mayores concentraciones de NaCl en la interfaz, disminuyendo hacia las porciones internas del queso y por tanto, más alejadas de la interfaz. Se observó además que el NaCl no había penetrado en distancias mayores a 2 cm desde la interfaz y coherentemente con esto los perfiles de humedad mostraron una disminución desde el centro de las piezas hasta la interfaz o superficie en contacto con la sal. Este comportamiento se vio reflejado en el valor del coeficiente efectivo de difusión (D_{eff}), que no varió significativamente con la distancia a la interfaz (para cualquier tiempo dentro de las 24 hs). Sin embargo se encontró que el D_{eff} disminuye significativamente con el tiempo de salado y por ende con la variación de la concentración de NaCl, por lo que la concentración de NaCl estimada considerando D_{eff} constante, conduce a errores de predicción considerables.

II. 2. INTRODUCCIÓN

Las cabras para la producción de queso en Argentina se crían en las regiones áridas y semiáridas, siendo una actividad que llevan a cabo pequeños agricultores, a menudo con recursos limitados. La provincia de Jujuy se encuentra en la región Noroeste de Argentina y el queso de cabra es producido principalmente por los propios criadores de los animales o por pequeñas organizaciones para agregar valor a la leche producida por sus animales. La producción de queso de cabra ha aumentado en los últimos años en la región y se ha convertido en una importante fuente de ingresos (Miceli et al., 2007). En Jujuy, el queso se elabora tradicionalmente por salado en seco, lo que requiere menos sal y menos espacio que el salado por inmersión en salmuera.

El salado es una operación importante en el proceso de elaboración de quesos porque determina propiedades organolépticas como el sabor, la textura y el color, además de modificar la actividad microbiológica y producir cambios físicos en las proteínas del queso (Guinee y Fox, 2004). El contenido de sal en la fase acuosa del queso define la posibilidad del desarrollo de microorganismos y la cinética de las reacciones enzimáticas durante la maduración, debido a la influencia que tiene sobre la actividad de agua.

36 Geurts et al. 1974 y 1980 describieron los mecanismos de control de la penetración de la sal en el queso (combinado con la migración de agua) y atribuyeron el movimiento de la sal a un proceso de difusión. El proceso de difusión está limitado por varias propiedades características del queso, por ejemplo, el agua libre, la viscosidad de la fase acuosa, contenido de compuestos en la fase

sólida y acuosa (Geurts et al., 1974; Guinee y Fox, 1983). La resultante de todos los efectos que limitan la difusividad de la sal se engloban en un coeficiente de difusión efectivo en el queso, D_{eff} . Esto es debido a que la difusión de sal en el queso se lleva a cabo a través de su disolución en el agua ocluida en la matriz, que se compone de proteínas agregadas y también contiene glóbulos de grasa, los cuales ofrecen resistencia al proceso de difusión molecular y aumentan la distancia real recorrida por una molécula de sal. Por lo tanto, la presencia física de la grasa *per se* reduce el valor D_{eff} (Guinee y Fox, 2004).

En el fenómeno de difusión del agua y particularmente del NaCl, influye significativamente el tipo de queso y numerosos autores describen este fenómeno usando la segunda ley de difusión de Fick, considerando el coeficiente de difusión como una constante para todo el proceso (Geurts et al., 1974; Gros y Rügge, 1987; Guinee y Fox, 1983; Luna y Bressan, 1987; Turhan, 1996; Zorilla y Rubiolo, 1994). En algunos de los estudios anteriores el coeficiente de difusión representa la difusividad efectiva del NaCl a través del queso, considerando a la matriz sólida del queso y al NaCl, como los dos componentes del sistema binario de difusión. Otros han definido el coeficiente efectivo de difusión del NaCl en la solución acuosa contenida en el queso considerando el sistema binario de difusión constituido por el agua del queso y el NaCl como soluto. Esta última presunción representa mejor el fenómeno de difusión pero la determinación del contenido de agua en la matriz del queso es necesaria para representar la distribución de la concentración de sal. Sin embargo, se han encontrado diferentes valores del coeficiente efectivo de difusión para distintos tiempos de salado en las mismas condiciones (Guinee y Fox, 1983; Turhan, 1996) indicando que este parámetro no puede considerarse constante porque depende de la concentración de los componentes (Payne y Morison, 1999). Los valores del coeficiente de difusión efectivo están en un rango de 1,4 a $3,1 \times 10^{-10} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ (Gombau y Chiralt, 1994), dependiendo del contenido de agua y la temperatura, por lo que los gradientes de temperatura no pueden ser descuidados durante el proceso de salado.

Muchos autores han reportado estudios experimentales relacionados con el fenómeno de salado en diferentes variedades de queso, por ejemplo, en queso crema, se encuentran estudios relacionados con la transferencia de masa durante el salado y la maduración (Luna y Bressan, 1987; De Pianta et al., 1990); en Gouda, la transferencia de sal y agua y el análisis de los procesos involucrados ha sido estudiada por Geurts et al., 1974 y 1980 y por Luna y Chavez, 1992; en Fynbo, Zorilla y Rubiolo (1994) modelizaron la difusión del NaCl y KCl. Morris et al. (1985) determinaron la difusión de la sal en cuajada de queso Cheddar y en un sistema de queso modelo. En este último estudio se pone de manifiesto una vez más que la difusión es un proceso muy lento y presenta un gradiente salino marcado que persiste después de 56 días de maduración y encontraron que el coeficiente de difusión está relacionado directamente con el contenido de humedad del queso cheddar. Afirman que si la distribución inicial de la sal es heterogénea, el equilibrio no es alcanzado durante el período de maduración normal. Es importante considerar aquí que el coeficiente efectivo de difusión guarda estrecha relación con el potencial químico del medio, el que además puede asociarse con el gradiente de concentración del componente que difunde. Turhan y Kaletunç (1992) estudiaron el transporte de sal en queso blanco (queso madurado semiduro tradicional de Turquía), a diferentes concentraciones de salmuera y realizaron el tratamiento de las muestras de queso como cuerpos finitos o semi-infinitos. Evaluaron la difusividad de sal y su variación con la temperatura. Estos autores concluyen que: 1)

para tiempos largos de salado el perfil de concentración de sal en el queso podría ser predicho utilizando las ecuaciones tradicionales de transferencia de masa en las que se considera constante la difusividad y que 2) el coeficiente efectivo de difusión obtenido durante el salado puede ser además utilizado para predecir el perfil de concentración al final del periodo de maduración. Esto solo es válido si se considera que un largo periodo de salado conlleva asociada la mayor velocidad de difusión de NaCl en el interior de las muestras, de manera que la transferencia de masa posterior ocurrirá a velocidad constante hasta alcanzar el equilibrio.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el fenómeno de difusión para el salado seco, determinando los perfiles experimentales de sal y agua en el queso de cabra durante el salado a temperatura constante (10°C), en función del tiempo y de la distancia a la interfaz. También se determinó el coeficiente de difusión efectivo, aplicando la solución de la ecuación de Fick para una geometría de cuerpo semi-infinito, en función del tiempo de salado y la distancia a la interfaz.

II.3. MATERIALES Y MÉTODOS

II.3.1. ELABORACIÓN DEL CULTIVO LÁCTEO

Se realizó un fermento con la microbiota propia de la leche cruda para simular una elaboración de queso tradicional de la zona que se realiza sin la pasterización de la leche. Para esto, un día antes de la elaboración del queso se tomaron 500 ml de leche cruda, se calentó hasta 65°C por 10 segundos y enfrió luego a 45°C. A esta última temperatura se incubó en estufa por 24 hs alcanzando una acidez de 150 °D y un pH de 4,3-4,4. Se realizó un análisis microbiológico para coliformes fecales y totales, Salmonella spp., mohos, levaduras y Staphylococcus coagulasa positiva; todas las pruebas dieron resultados negativos.

II.3.2. ELABORACIÓN DEL QUESO

La leche se obtuvo directamente de tambo y se trasladó al laboratorio en recipientes de 10 litros de capacidad. En primer lugar, se efectuó un filtrado rápido de la leche y luego se realizó una pasterización baja, a 65°C por 30 minutos. Se enfrió luego a 40°C y se agregó el cultivo lácteo (1ml/l de leche) preparado según el punto anterior. Se dejó actuar el cultivo hasta que el pH disminuyó en un decimal y seguidamente se incorporó cuajo comercial Marca Chr. Hansen, Producto CHYMAX, 100% quimosina, (40 ml/100l de leche). Se dejó actuar aproximadamente por 30 minutos. Se realizó el cortado de la cuajada en cubos de 1 cm de lado, con posterior mezclado y agitación suave, evitando que los granos de cuajada se rompieran, para favorecer el desuerado. La cuajada se separó del suero por filtrado por medio de tela Suiza, luego se moldeó en moldes plásticos perforados de 5 cm de alto y 10 cm de diámetro, formándose quesos de aproximadamente 500 gr y se prensó por apilado de los mismos, rotándolos para la homogeneidad de todos los quesos.



II.3.3. TRATAMIENTO DE SALADO

Se extrajeron prismas de 1 cm de lado y 3 cm de altura, en dirección axial de las piezas de queso. Se recubrieron con parafina para evitar la transferencia radial de materia, dejando una cara de 1 cm² para el contacto con la sal y de esa manera simular una geometría controlada de cuerpo semi-infinito. Los prismas se colocaron en una placa de Petri y se salaron por contacto con NaCl sólido, de tal manera que el área abierta estaba en contacto con sal en exceso. En la Figura II.1. puede verse una representación gráfica de la metodología experimental realizada. El salado se realizó en una cámara de refrigeración manteniendo una temperatura constante de 10°C ± 1 °C.

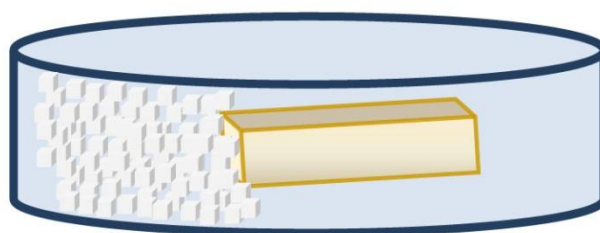


Figura II.1. Diagrama del mecanismo experimental utilizado para el salado del prisma semi-infinito

II.3.4. ANÁLISIS DE LOS PERFILES DE CONCENTRACIÓN

Se extrajeron muestras a diferentes tiempos de salado: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 80, 100, 120 y 150 minutos y 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18 y 24 horas.

Cada muestra se seccionó en 5 porciones de 5,0 mm ± 0,5 mm de espesor medidas con un calibre, pesadas y colocadas en bolsas individuales perfectamente identificadas. Las muestras se congelaron a -25°C ± 1°C para su posterior análisis de contenido de humedad y concentración de cloruros. Las distancias a la interfaz analizadas fueron 0,005 m, 0,01 m, 0,015 m, 0,02 m y 0,025 m. Estas distancias fueron las medias de las secciones.

II.3.5. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

La determinación de cloruro de sodio se realizó siguiendo el Método Oficial (AOAC, 1995) basado en una digestión ácida de la muestra de queso con posterior oxidación con permanganato de potasio, en exceso de nitrato de plata. El nitrato de plata remanente se tituló aplicando la Técnica Volhard con tiocianato de potasio, utilizando nitrobenzeno para aislar el precipitado de cloruro de plata (Silverman et al., 1959) y solución de alumbre de hierro amoniacal como indicador, los resultados se expresaron en [g de NaCl.(g NaCl + g de agua)⁻¹].

El contenido de humedad se determinó pesando con precisión entre 0,5 g y 1 g de queso y secando en una estufa de vacío, Modelo Shel Lab 1410, a 60°C ± 1°C y 25 pulgadas de mercurio

hasta peso constante. La pérdida de peso, después del secado, se calculó y expresó como g agua. (g de materia seca)⁻¹.

II.3.6. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE EFECTIVO DE DIFUSIÓN

La sal en el queso se encuentra en disolución en la fase líquida, por lo que para el modelado matemático se supone que la difusión de sal en el agua contenida en la matriz de queso es equivalente a la difusión de sal en agua pura.

La transferencia de sal en queso es una difusión controlada y la mezcla binaria de sal y agua tiene una concentración molar constante C, por lo que la ecuación que gobierna el transporte de sal en queso, en un proceso de difusión isotérmico en una dimensión, se puede expresar como:

$$\frac{\partial C_s}{\partial t} = D_{eff} \frac{\partial^2 C_s}{\partial x^2} \quad (1)$$

La ecuación de difusión describe el cambio de la concentración molar de sal en la fase acuosa del queso, con respecto al tiempo, a una distancia fija desde la superficie de salado.

El modelo de difusión usado supone que no existe resistencia superficial a la transferencia de masa, con lo que la resistencia interna es la que gobierna el proceso. La concentración de sal en la superficie es igual a la de la salmuera que se genera en la interfaz y que para el salado seco se corresponde con la concentración de una disolución saturada de sal a la temperatura del proceso. Estas asunciones conducen a la condición de equilibrio (C. E.) representada por C. E. 1.

También se considera que el proceso se desarrolla sobre una geometría de cuerpo semi-infinito inmerso en una disolución saturada de cloruro de sodio y está caracterizado por el transporte de sal en la muestra de queso por breves períodos. La solución de la ecuación de difusión con la condición inicial y las condiciones de equilibrio es (Crank, 1975):

C.I.	t = 0	x > 0	C _s = 0
C.E.1	t > 0	x = 0	C _s = C _{s1}
C.E.2	t > 0	x → ∞	C _s = 0

$$Y(x,t) = \frac{C_s - C_{s1}}{C_{s0} - C_{s1}} = erf \frac{x}{2\sqrt{D_{eff}t}} \quad (2)$$

donde: Y = Fuerza impulsora reducida

C_s = Concentración de sal en la disolución salina del queso al tiempo t, en [g de NaCl.(g NaCl + g de agua)⁻¹]



C_{S1} = Concentración de sal en el equilibrio, en $[\text{g de NaCl} \cdot (\text{g NaCl} + \text{g de agua})^{-1}]$

C_{S0} = Concentración de sal en la disolución salina del queso al tiempo $t = 0$, en $[\text{g de NaCl} \cdot (\text{g NaCl} + \text{g de agua})^{-1}]$

El valor en el equilibrio se tomó igual a la concentración de una solución saturada de NaCl, de acuerdo con lo expresado por Guinee (2004) al evaluar el fenómeno de salado en queso Cheddar.

El coeficiente de difusión, D_{eff} en la expresión (2), se determinaría a partir de la función error inversa:

$$\frac{x}{2\sqrt{D_{\text{eff}}t}} = \text{erf}^{-1}(Y(x,t)) \quad (3)$$

Debido a que no se tiene una expresión analítica erf^{-1} , se empleó la aproximación de la función error y de su inversa propuesta por Sergei Winitzki (2008), donde la inversa está dada por:

$$\text{erf}^{-1}(Y) \approx \begin{cases} \left[-\frac{2}{0,14\pi} - \frac{\ln(1-Y^2)}{2} + \sqrt{\left(\frac{2}{0,14\pi} + \frac{\ln(1-Y^2)}{2}\right) - \frac{1}{0,14} \ln(1-Y^2)} \right]^{1/2} & \text{si } Y \in (-1,0) \\ \left[-\frac{2}{0,14\pi} - \frac{\ln(1-Y^2)}{2} + \sqrt{\left(\frac{2}{0,14\pi} + \frac{\ln(1-Y^2)}{2}\right) - \frac{1}{0,14} \ln(1-Y^2)} \right]^{1/2} & \text{si } Y \in [0,1) \end{cases} \quad (4)$$

Se verificó que el error relativo máximo para la inversa de la función de error sea de aproximadamente $3,5 \times 10^{-3}$ para todos los valores absolutos de $Y(x,t)$ cercanos a uno. Este se considera que es un error aceptable. Se determinó el coeficiente de difusión efectivo para cada posición (distancia desde la interfaz) y cada tiempo de salado.

II.3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un ANOVA factorial para los valores calculados del coeficiente efectivo de difusión. Los factores analizados fueron la distancia desde la interfaz, el tiempo de salado y la interacción de ambos factores.

En aquellos factores que fueron significativos se realizó una comparación múltiple de medias para determinar qué medias eran significativamente diferentes. El procedimiento de Bonferroni se utilizó para este análisis ya que el número de observaciones en cada nivel de las variables estudiadas no fue igual.



II.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

II.4.1. PERFILES EXPERIMENTALES DE CONTENIDO DE HUMEDAD Y CLORURO DE SODIO

Los resultados experimentales revelaron que después de 24 h de salado, los perfiles de concentración no están completamente desarrollados en todo el espesor de la muestra de queso. A distancias de la interfaz mayores a dos centímetros la concentración de NaCl es igual a la concentración inicial en el tiempo $t=0$, para todos los tiempos de salado estudiados. Esto se puede ver en la Figura II.2, donde los datos muestran los perfiles de concentración en términos de contenido de NaCl de acuerdo con la distancia desde la interfaz para diferentes tiempos de salado.

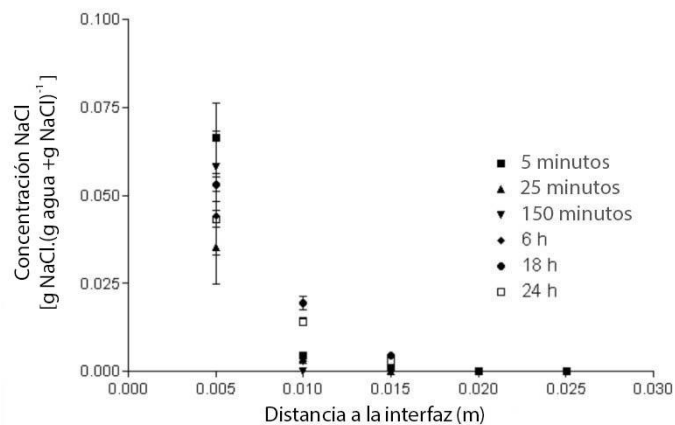


Figura II.2. Perfiles experimentales de concentración de sal para diferentes tiempos de salado.

En el salado en seco, la sal sólida se disuelve en el suero y forma una salmuera sobresaturada. Se sabe que la salmuera con un alto contenido de sal provoca una rápida pérdida de humedad desde la superficie del queso en contacto con ella. Esto, a su vez, provoca la contracción de la estructura de queso, disminuye la porosidad y dificulta la salida de agua y la difusión de sal en el queso (Melilli et al., 2005), lo que justificaría los resultados observados.

Los perfiles experimentales de agua obtenidos en las muestras de queso, a diferentes tiempos de salado y 10°C , se muestran en la Figura II.3.

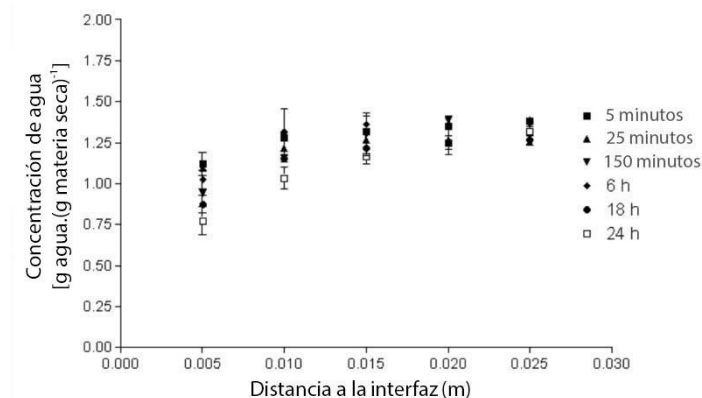


Figura II.3. Perfiles de concentración de agua a distintos tiempos de salado.



Los perfiles de humedad muestran una disminución desde la superficie más alejada de la interfaz ($x = 0,025$ m) a la superficie en contacto con la sal ($x = 0,005$ m). El correspondiente contenido de sal, sin embargo aumenta gradualmente desde la superficie más alejada a la que está en contacto con la sal. En efecto, al poner en contacto el queso con la sal se generan simultáneamente un gradiente de concentración de sal y un gradiente de concentración de agua, lo que provoca la pérdida de humedad y la ganancia de NaCl. Esto concuerda con lo encontrado por otros autores (Pajonk et al., 2003). En el salado seco ocurren esencialmente los mismos mecanismos de absorción de sal que suceden en los quesos salados por inmersión en salmuera. Algunos de los cristales de sal seca distribuidos sobre la superficie de cuajada se disuelven en la superficie húmeda permitiendo la difusión de sal hacia el interior. Esto causa un flujo de suero desde el interior de la cuajada hacia la superficie que disuelve los cristales de sal remanentes y crea una salmuera sobresaturada alrededor de cada gránulo de cuajada (Guinee, 2004). Pero, el contacto con esta salmuera saturada produce la contracción de la superficie de la cuajada (precipitación salina de la proteína) y esto conduce probablemente a las pérdidas de humedad relativamente altas de la región de la superficie y por lo tanto una reducción en la movilidad de NaCl que se manifiesta en la menor tasa de absorción de sal en este método que en el salado por inmersión en salmuera coincidiendo con Melilli et al. (2003).

II.4.2. EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN EFECTIVO DE NaCl

El coeficiente de difusión se calculó para cada tiempo estudiado y se evaluó su variabilidad. El valor de difusividad efectiva para el NaCl (Ec. (3)) calculado para 24 h de salado resultó igual a $D_{eff} = (1,13 \pm 0,06) \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Este valor encontrado es un orden de magnitud superior a los valores reportados por otros autores en diferentes tipos de queso y muy cercano al valor del coeficiente de difusión del NaCl en agua pura que es $1,16 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para temperaturas de aproximadamente $12,5^\circ\text{C}$ (Floury et al., 2010). Las variaciones encontradas en el coeficiente de difusión lleva a la conclusión de que estos valores no pueden ser considerados como invariantes de la concentración. Como la concentración depende de la posición y el tiempo de salado, para evaluar la influencia de estos factores se realizó un Análisis de Varianza.

Las dos primeras distancias predeterminadas desde la interfaz fueron tenidas en cuenta en la evaluación del coeficiente de difusión efectivo, ya que la sal no difundió a distancias mayores (Figura II.2). El análisis de varianza se realizó en la variable distancia a la interfaz en dos niveles (0,005 m y 0,01 m) para todos los tiempos seleccionados. Los resultados calculados a partir de la Ec. (2) se muestran en Tabla II.1.

Los p-valores obtenidos permiten comprobar la importancia estadística (95% de confianza) del tiempo de salado sobre el coeficiente de difusión pero no para la distancia a la interfaz o su interacción. El perfil de respuesta de la variación del coeficiente de difusión efectivo es por lo tanto similar para las dos distancias a la interfaz evaluadas. Luo et al. (2013) encontraron que el equilibrio para el salado en salmuera en queso Mozzarella se alcanzaba prácticamente después de 30 días de salado. Para 24 h de salado no pudieron determinar el coeficiente de difusión en las partes centrales ya que para ese tiempo en esas posiciones no obtuvieron datos de concentración

II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO DE QUESO DE CABRA

de NaCl, pero para salados en tiempos largos encontraron que el coeficiente de difusión dependía también de la posición de muestreo.

Tabla II.1. Análisis de varianza para coeficiente de difusión

<i>Variable</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>F-ratio</i>	<i>p-value</i>
A:Distance	1	3,83	0,0582
B:Time	20	34,44	0,0000
AB	20	0,92	0,5652
Total (corr.)	77		

Se realizó una comparación múltiple de medias con respecto al tiempo, con el objetivo de determinar diferencias significativas, aplicando el test de Bonferroni. Los resultados se muestran en la Tabla II.2 en donde se observa que el proceso de difusión se puede dividir en dos etapas entre las cuales la diferencia en el coeficiente de difusión es estadísticamente significativa. En la primera etapa, desde los 5 hasta los 15 minutos, el coeficiente de difusión varía significativamente disminuyendo a medida que aumenta el tiempo de salado. Para el resto de los tiempos (segunda etapa), desde los 20 minutos hasta las 24 horas, el coeficiente de difusión efectivo no presentó diferencias estadísticamente significativas, con valores medios entre $7,95 \times 10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ y $1,15 \times 10^{-10} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. Los valores del coeficiente de difusión efectivo disminuyen con el tiempo de salado. Luo et al. (2013) también encontraron que los valores del coeficiente de difusión efectivo de NaCl disminuían durante las primeras 24 horas de salado en salmuera para queso Mozzarella. Es probable que estas diferencias en el coeficiente de difusión se deban a los cambios en la microestructura del queso, lo que está de acuerdo con estudios previos (Guinee and Fox, 1983; Morris et al., 1985). El suero de leche se intercala a lo largo del queso y, junto con gruesas hebras de proteínas, hacen una red continua que contiene glóbulos de grasa (McMahon et al., 2009). Por lo tanto, el valor del coeficiente de difusión efectivo depende del contenido de sal y por lo tanto del tiempo de salado.

El test de ajuste para el modelo proporciona un p-valor menor que 0,05, lo que muestra que es estadísticamente significativa la relación encontrada entre el coeficiente de difusión efectivo y el tiempo de salado, con un nivel de confianza del 95%.

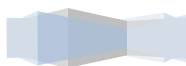
El coeficiente de determinación indica que el modelo ajustado explica el 96,33% de la variabilidad del coeficiente de difusión. El coeficiente de correlación es igual a -0,98, indicando una relativamente fuerte relación entre las variables. El gráfico del modelo ajustado a los datos experimentales se puede ver en la Figura II.4.



Tabla II.2. Resultados del test de Bonferroni para el coeficiente de difusión efectivo según el tiempo de salado.

<i>Tiempo (min)</i>	<i>Media (m² s⁻¹)</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
1440	0.11555E-9	A*
840	0.154825E-9	A
1080	0.18025E-9	A
600	0.26975E-9	A
360	0.33225E-9	A
480	0.3485E-9	A
180	0.43725E-9	A
300	0.447E-9	A
240	0.52375E-9	A
150	0.57925E-9	A
120	0.593E-9	A
100	0.7805E-9	A
80	1.0115E-9	A
60	1.1955E-9	A
45	2.43E-9	A B
30	2.825E-9	A B
25	4.575E-9	A B
20	7.95E-9	A B
15	10.1675E-9	B
10	18.8E-9	C
5	30.725E-9	D

* letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa



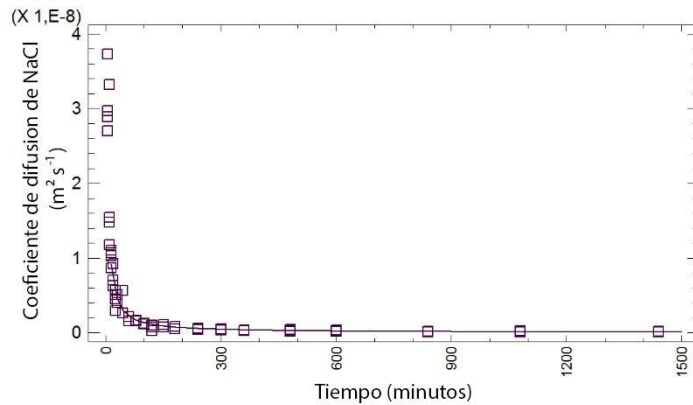


Figura II.4. Valores de los coeficientes de difusión obtenidos (puntos) para todos los tiempos estudiados, teniendo en cuenta las dos primeras distancias a la interfaz analizadas (0,005 m y 0,01 m). La línea representa el modelo propuesto en la Ec. (5).

La Figura II.5 muestra los valores experimentales de concentración de NaCl (puntos) y los valores teóricos (líneas) calculados a partir del valor global del coeficiente de difusión efectivo para las 24 h de salado y a partir del valor del coeficiente de difusión efectivo calculado para igual tiempo de salado de la Ecuación 5. Como se puede ver, el modelo que considera un coeficiente de difusión efectivo constante sobre estima los valores experimentales y el modelo propuesto, teniendo en cuenta el tiempo de salado, ajusta mejor los datos experimentales. Estas observaciones indican que el modelo de coeficiente de difusión constante no es capaz de interpretar la cinética de difusión del NaCl durante el salado seco. La falta de ajuste se atribuye a que el D_{eff} varía con el contenido de sal. Esto es consistente con lo encontrado por Pajonk et al. (2003) y Turhan (1996). En contraste, otros autores han obtenido que el proceso de difusión en el salado en salmuera puede ser descrito considerando el coeficiente de difusión constante (Floury et al., 2009; Geurts et al., 1974; Gros y Rüegg, 1987; Guinee y Fox, 1983; Luna y Bressan, 1987; Zorrilla y Rubiolo, 1994). Claramente, se requiere seguir profundizando en este campo ya que la bibliografía tiene resultados dispares.

Se realizó un análisis de regresión para determinar la existencia de una relación entre el coeficiente de difusión efectivo y la concentración de NaCl. Los resultados obtenidos permitieron verificar la independencia entre ambos, teniendo en cuenta todos los datos obtenidos sin separar por el tiempo de salado. Cuando se separaron los datos por tiempo de salado, el modelo exponencial proporcionó el mejor ajuste (Figura II.6).

La ecuación para el modelo ajustado para $t = 18$ h es:

$$D_{eff} = \exp (-21,8161 - 19,0554 C_s) \quad (6)$$

La ecuación para el modelo ajustado para $t = 24$ h es:

$$D_{eff} = \exp (-22,2503 - 24,2139 C_s) \quad (7)$$



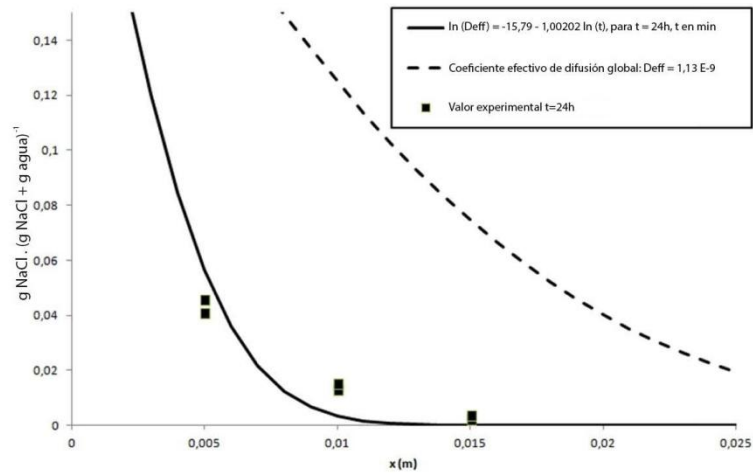


Figura II.5. Modelado de los perfiles de NaCl teniendo en cuenta el coeficiente de difusión efectivo y el coeficiente calculado a partir de la Ec. (5) para el tiempo de 24 h. Valores experimentales (símbolos). Modelos (líneas).

El p-valor para el análisis de la varianza para el ajuste del modelo es 0,0009 para 18 h y 0,008 para 24 h, lo que muestra que hay una relación estadísticamente significativa entre el coeficiente de difusión efectivo y la concentración de sal, a un nivel de confianza del 95%.

R^2 indica que el modelo ajustado explica 95,26% y el 95,53% de la variabilidad de los datos para 18 h y 24 h, respectivamente.

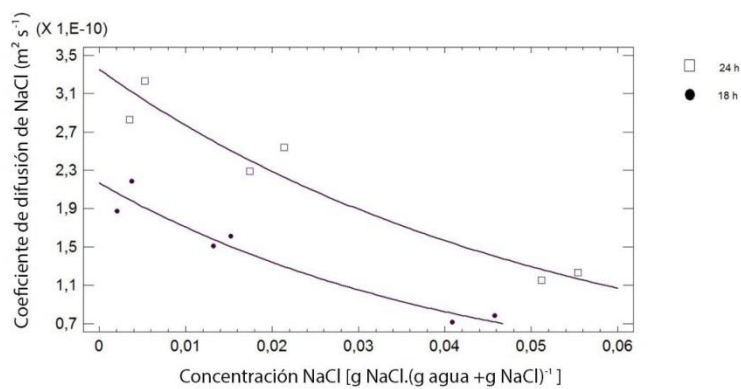
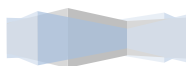


Figura II.6. Gráfico del análisis de regresión para el coeficiente de difusión en función de la concentración de NaCl. Símbolos: valores experimentales, líneas: modelos propuestos



II.5. CONCLUSIONES

Se puede concluir que un solo valor constante del coeficiente de difusión efectivo no es adecuado para describir el proceso de salado seco de 24 horas, estudiado. Se puede afirmar que la concentración de NaCl, calculada a partir de considerar un coeficiente de difusión efectivo constante, sobre-estima los valores experimentales, mientras que la ecuación que considera la variación con el tiempo de salado se adapta mejor. No es posible asumir un D_{eff} constante para todo el salado lo que se atribuye a que no se cumplen todos los supuestos de la ley de Fick que permiten asumir tal situación. A su vez se pudo constatar que la difusión prevalece durante el proceso y puede aplicarse la ley de Fick para explicar el fenómeno de salado en el queso, en tiempos cortos, en el que los postulados de Fick podrían ser válidos con más probabilidad.

Las diferencias significativas encontradas en los coeficientes de difusión efectivo en los primeros 20 minutos de salado puede explicarse debido al contacto inicial del queso con la sal seca, lo que provoca cambios en las configuraciones de las proteínas (salting out) que, junto con la contracción de las estructuras del queso, producen un proceso de difusión impedido.

Se encontró que el modelo exponencial ajusta los valores del D_{eff} en función de la concentración de NaCl para las 18 h y 24 h de salado.

II.6. BIBLIOGRAFÍA

Association of Official Analytical Chemists International. (1995). Official Methods of Analysis. 16th ed. AOAC.

Crank, J. (1975). The Mathematics of Diffusion. Oxford University Press, Oxford.

De Piante, D., Castelao, E., & Rubiolo de Reinick, A. (1990). Diffusion coefficient of salt in salting and ripening soft cheese. In W.E.L. Spiess & H. Schubert (Eds.), Engineering and food, vol. 1. Physical properties and process control, p.493-502. Elsevier Science Publishers, New York.

Floury, J.; Rouaud, O; Le Poullennec, M.; Famelarta, M.H. (2009). Reducing salt level in food: Part 2. Modelling salt diffusion in model cheese systems with regards to their composition. LWT- Food Science and Technology, 42: 1621–1628.

Floury, J., Jeanson, S., Aly, S., & Lortal, S. (2010). Determination of the diffusion coefficients of small solutes in cheese: A review. Dairy science & technology, 90(5), 477-508.

Geankoplis, C.J. (1999). Procesos de transporte y operaciones unitarias. CECSA, México.

Geurts, T.J., Walstra, P., & Mulder, H. (1974). Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. Netherlands Milk and Dairy Journal, 28, 102-129.

Geurts, T.J., Walstra, P., & Mulder, H. (1980). Transport of salt and water during salting of cheese. 2. Quantities of salt taken up and of moisture lost. Netherlands Milk and Dairy Journal, 34, 229-254.



Gombau, J.B., & Chiralt, A. (1994). Evolución de perfiles de humedad y actividad de agua durante la maduración de queso Manchego. In P. Fito, A. Mulet, E. Hernández & D. Vidal (Eds.), *Anales de Investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos*, Vol. 3. Universidad Politécnica de Valencia, España.

Gros, J.B.; Rüegg, M. (1987). Determination of the apparent diffusion coefficient of sodium chloride in model foods and cheese. *In: F. Jowitt, B. Escher, M. Kent, B. McKenna & M. Roques (Eds.), Physical properties of foods*, vol 2, pp. 251-297. Elsevier, London.

Guinee, T.P. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 99-109.

Guinee, T.P.; Fox, P.F. (1983). Sodium chloride and moisture changes in Romano-type cheese during salting. *Journal of Dairy Research*, 50, 511-518.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (2004). Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. *In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1 General Aspects, 3era ed. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (eds). Elsevier, London.

Luna, J.A.; Bressan, J.A. (1987). Mass transfer during ripening of Cuartirolo argentino cheese. *Journal of Food Science*, 52(2), 308-311.

Luna, J.A., & Chavez, M.S. (1992). Mathematical model for water diffusion during brining of hard and semi-hard cheese. *Journal of Food Science*, 57(1), 55-58.

Luo, J.; Pan, T.; Guo, H. Y.; Ren, F. Z. (2013). Effect of calcium in brine on salt diffusion and water distribution of Mozzarella cheese during brining. *Journal of dairy science*, 96(2): 824-831.

McMahon, D.J.; Motawee, M.M.; McManus, W.R. (2009). Influence of brine concentration and temperature on composition, microstructure, and yield of feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 92: 4169–4179.

Melilli, C., Barbano, D., Licitra, G., Tumino, G., Farina, G., Carpino, S., (2003). Influence of presalting and brine concentration on salt uptake by Ragusano cheese. *Journal Dairy Science* 86, 1083–1100.

Melilli, C., Carcò, D., Barbano, D., Tumino, G., Carpino, S., Licitra, G., (2005). Composition, microstructure, and surface barrier layer development during brine salting. *Journal Dairy Science* 88, 2329–2340.

Miceli, E., Castagnasso, H., Lara, J., López, M., & Lacchini, R. (2007, Mayo). Queso de leche de cabra: variaciones según su cruzamiento. Poster presentado en el V Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.

Morris, H.A., Guinee, T.P., & Fox, P.F. (1985). Salt diffusion in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 68, 1851-1858.



II. DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl DURANTE EL SALADO DE QUESO DE CABRA

Pajonk, A.S., Saurel, R. & Andrieu, J. (2003). Experimental study and modeling of effective NaCl diffusion coefficients values during Emmental cheese brining. *Journal of Food Engineering*, 60, 307-313.

Payne, M.R.; Morison, K.R. (1999). A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. *International Dairy Journal*, 9, 887-894.

Silverman, G.J., Wolin, A.G., & Kosikowski, F.V. (1959). Simplification of standard methods for salt analysis in cheese. *Journal of Dairy Science*, 42 (6), 1095-1096.

Turhan, M. (1996). Modeling of salt transfer in white cheese during short initial brining. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 50, 541-550.

Turhan, M.; Kalentunç, G. (1992). Modeling of salt diffusion in white cheese during long-term brining. *Journal of Food Science*, 67(5), 1082-1085.

Zorrilla, S.E.; Rubiolo, A.C. (1994). Modeling NaCl and KCl movement in Fynbo cheese during salting. *Journal of Food Science*, 59(5), 976-980.

Winitzki, S. (2008). A handy approximation for the error function and its inverse. <<http://sites.google.com/site/winitzki/sergei-winitzkis-files/erf-approx.pdf>>. Última consulta: 28/04/14.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE
ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA
AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA
EN QUESO DE CABRA SALADO SECO
SUPERFICIAL DURANTE LA
MADURACIÓN

III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

III.1. RESUMEN

Con el objetivo de determinar la evolución de los perfiles de distribución de cloruro sódico y agua, se analizaron quesos de cabra salado seco superficial durante cuatro semanas de maduración. Se analizaron los perfiles de concentración de cloruro sódico y agua en función de la altura y el diámetro de las piezas de queso y se aplicó la metodología de análisis de superficie de respuesta para su interpretación. La distribución de agua fue mayor en la zona exterior hasta la segunda semana de maduración debido al movimiento de agua ocasionado por los gradientes de presión osmótica a causa del ingreso de NaCl. A partir de este momento se produce la deshidratación superficial de los quesos. A su vez, para el perfil de cloruro sódico se observó inicialmente una rápida incorporación de sal en las capas superficiales que decrece a medida que avanza el proceso de maduración por la difusión hacia el interior. Aunque se realizó un volteo adecuado, no alcanzó para que la distribución de sal y agua sea pareja en las partes superior e inferior del queso en los primeros días, viéndose favorecida la distribución vertical debido al efecto gravitacional. Al final del periodo estudiado se encontró un equilibrio en la concentración de NaCl en la dirección vertical mientras que en la dirección horizontal persistieron pequeñas diferencias. La predicción de la evolución de los modelos propuestos indica que el equilibrio en la concentración de NaCl se alcanzaría a los 35 días de maduración. Las variaciones en los niveles de humedad y sal de los quesos deben influir en el crecimiento microbiano y la actividad enzimática las que afectarán la proteólisis y lipólisis, lo que será objeto de estudio de otros capítulos.

III.2. INTRODUCCIÓN

En el proceso de elaboración del queso hay muchos factores que influyen para obtener un producto de buena calidad higiénica y organoléptica. Uno de estos factores es el tipo de salado, que influye en la concentración final de sal y esto afecta la actividad de agua en el queso lo que limita el desarrollo de microorganismos y las reacciones bioquímicas y enzimáticas. Con una elaboración de queso controlada se puede obtener un producto de buena calidad que asegure a los consumidores la calidad higiénico-sanitaria del producto y al mismo tiempo proporcione una opción de agregado de valor a los productores de leche de cabra.

Una variable fundamental en la formulación y control del proceso de elaboración de queso es el método de salado, la concentración de sal utilizada, su perfil en el interior del producto y su evolución con el tiempo de maduración.

Durante la maduración, el nivel de sal tiene un efecto importante sobre el crecimiento microbiano, las actividades enzimáticas y los cambios bioquímicos que determinan el sabor,

III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

aroma y textura (Guinee y Fox, 2004; Ardö et al. 2014). Como resultado, la concentración de sal influye sobre la calidad general de queso. En consecuencia, el control preciso de este factor es una parte esencial del proceso de fabricación del queso para garantizar una calidad constante y óptima (Guinee, 2004). Junto con la temperatura, pH, actividad de agua, potencial redox y flora microbiana, la sal ayuda a la conservación del queso, reduciendo al mínimo el deterioro y previniendo el crecimiento de patógenos (Labrie et al. 2014). Estos factores interactúan uno con el otro y, en muchas situaciones, la distinción entre ellos no es clara (Tabla et al., 2015).

Los caprinos se crían en Argentina en las regiones áridas y semiáridas por productores de escasos recursos económicos, manteniéndose esta producción con características económicas de subsistencia. A pesar de no gravitar en la economía nacional, la explotación caprina es de fundamental importancia para satisfacer lo esencial de la alimentación humana (carne y leche) y atender otras necesidades de los pobladores de esas regiones, tales como la ocupacional, la radicación o el asentamiento de la familia rural y la formación del espíritu productivo (Maubecín, 1983).

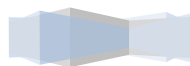
En la región del Noroeste Argentino, en la que se encuentra la provincia de Jujuy, la producción de queso de cabra está basada en pequeños emprendimientos, en su mayoría familiares o de comunidades de pueblos originarios, que utilizan la elaboración de queso como un recurso de valor agregado para la leche de los animales que crían a campo.

En los últimos años, se ha incrementado la producción de quesos elaborados a partir de leche de cabra, proceso que ha adquirido a escala artesanal gran importancia regional (Miceli, 2007).

En el caso del queso de cabra que tradicionalmente se elabora en la provincia de Jujuy el salado se realiza en su mayoría por distribución en seco de la sal, ya sea por mezcla de sal con la masa de cuajada o por distribución de sal sobre su superficie, métodos que son conocidos en todo el mundo. El salado seco es de amplia difusión en esta región debido a que de esta manera no se requiere equipamiento adicional ni lugar físico como el tradicionalmente usado para mantener los quesos sumergidos en salmuera, además de que la cantidad de sal usada es mucho menor. La elaboración de queso de cabra en Jujuy se realiza mayoritariamente a nivel artesanal sin tener de esta manera ningún tipo de control durante la misma. Esto trae aparejado defectos de elaboración, que a veces pasan inadvertidos para los consumidores y otras veces producen la pérdida de materia prima para los productores, con el consecuente detrimento económico.

Una comprensión detallada de los factores que influyen en la distribución de la sal permitirá conocer si se alcanza o no el equilibrio de sal y agua, definir el tiempo mínimo de maduración y plantear mejoras a aplicar en este tipo de salado, que ayuden a las comunidades rurales a incrementar la calidad final de sus productos.

Un análisis de los perfiles de concentración de sal desarrollados durante todo el proceso de transferencia de masa es un buen método para clarificar el alcance de los mecanismos involucrados en la misma. En la elaboración del queso, los perfiles de sal obtenidos durante el salado adquieren especial relevancia porque afectan el desarrollo de la maduración, ya que el contenido de sal influye en el desarrollo de los procesos bioquímicos y microbiológicos (Escriche et al., 1999; Pavia et al., 1999). Además, durante la maduración, la concentración local de sal es



principalmente controlada por la difusión de sal y la migración de agua (Hardy, 1985). En general una distribución uniforme de sal en la masa de queso se obtiene después de un tiempo relativamente largo, por ejemplo: 8 a 12 semanas en queso Gouda (Guinee y Fox, 2004).

Por muchos años, algunos autores han reportado varios estudios experimentales relacionados con el fenómeno de salado en distintas variedades de quesos: en camembert se estudió la difusión y distribución de ClNa, su influencia sobre la actividad de agua y las propiedades de sorción de agua (Hardy, 1983); en fynbo, el modelado de la difusión de ClNa y ClK (Zorilla y Rubiolo, 1994); en cuartirolo, la transferencia de masa durante el salado y el madurado (Luna y Bressan, 1987; De Piante et al., 1990); en romano, la variación en el contenido de ClNa y la humedad durante el salado y maduración y para diferentes geometrías (Guinee y Fox, 1983, 1983b, 1986, 1986b; Guinee, 1985); en feta, modelado de la transferencia de sal durante la maduración (Turhan, 1996; Turhan y Kaletunç, 1992; Zhu et al., 2011); en cheddar, la difusión de sal (Morris et al., 1985), la influencia de la sustitución con KCl en la expulsión del suero (Lu y McMahon, 2015); en gouda, la transferencia de sal y agua (Geurts et al., 1974; Geurts et al., 1980; Luna y Chavez, 1992) y los gradientes espacio-temporal de la materia seca (Vandenberghe et al., 2014); en Tronchon, análisis termodinámico del proceso de salado (Velásquez-Varela et al., 2014); en Mozzarella, efecto del agregado de Calcio a la salmuera sobre la difusión de sal y la distribución de agua (Luo et al., 2013) y en Emmental (Chamba, 1982). Métodos alternativos de salado han sido investigados, como el salado acústico (Sanchez et al., 1999, 2000) en el que se estudió la cinética del proceso o el salado por impregnación a vacío (Gonzales-Martínez et al., 2002; Pavia et al., 2000; Andrés et al., 1997) en los que se ha estudiado la cinética del salado y la distribución de sal en queso Manchego. En queso de cabra se han estudiado: los cambios en agua ligada durante la maduración de quesos elaborados a partir de leche cruda, pasteurizada o tratada por alta presión (Buffa et al., 2003), estructura, composición y agua no disponible como solvente a diferentes tiempos de maduración (Pierre et al., 1999). Todaro et al. (2011) estudiaron el efecto de diferentes tecnologías de salado, entre ellas el salado seco superficial, sobre las características químicas y microbiológicas del queso Pecorino Siciliano.

Debido a que la mayoría de los trabajos estudian el salado por inmersión en salmuera y ya que existen muy pocos estudios realizados sobre, exclusivamente, el salado seco superficial; se plantea como objetivo de este trabajo estudiar el perfil de distribución de sal y agua en quesos salados por este método durante un período de maduración de 28 días, aplicando la metodología de superficie de respuesta.

III.3. MATERIALES Y MÉTODOS

III.3.1. Toma de Muestra y Análisis de la Materia Prima

La leche se obtuvo directamente del tambo de un productor de la localidad de Monterrico, provincia de Jujuy y se trasladó al Laboratorio de Ingeniería para el Desarrollo de la Agroindustria Regional (IDEAR) de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy en recipientes de 10 litros de capacidad. Se sometió a ensayo inmediatamente. Se homogeneizó la leche por

III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

agitación mecánica durante 30 segundos, aproximadamente. La toma de muestra para los ensayos se efectuó sobre el volumen total de leche homogeneizada, extrayendo una porción volumétrica representativa.

En la leche cruda se analizó:

- Acidez, por el Método AOAC, 16th Ed. Nº 33.2.06. Titulación con NaOH 0,1N con fenolftaleína en alcohol como indicador. El resultado se expresó en % (p/p) de ácido láctico (1 ml 0,1 N NaOH = 0,0090 g ácido láctico).
- pH, utilizando un medidor Marca Hanna, Modelo HI8424.
- Densidad, con un lactodensímetro marca FITE S. A. La corrección de temperatura se llevó a cabo empleando una tabla de corrección provista por el fabricante.

III.3.2. Elaboración del Fermento Natural de Leche

Se colocaron 500 ml de leche cruda en un vaso de precipitado y se calentó a 65°C. Posteriormente se enfrió hasta 45°C y se incubó durante 24 hs alcanzando una acidez de 150°D y un pH de 4,3-4,4. El fermento obtenido se almacenó en refrigeración a 4°C.

Al momento de elaborar el queso, de las dos fases formadas se desechó el sobrenadante, y el suero se utilizó para sembrar la leche.

III.3.3. Elaboración del Queso

Se realizaron dos elaboraciones de quesos de cabra, una al comienzo de verano (Noviembre) y otra al final de la estación (Marzo), para cada una se partió de 40 litros de leche de cabra.

Se efectuó un filtrado rápido de la leche y luego se realizó una pasterización baja a 60°C por 30 minutos. Se enfrió luego a 40°C y se agregó el cultivo lácteo (1% (v/v)). Se dejó actuar el cultivo hasta que el pH descendió una décima de unidad, aproximadamente 15 minutos y seguidamente se incorporó el cuajo Marca Chr. Hansen, Producto CHYMAX, 100% quimosina, con una fuerza coagulante IMCU 77,93000 (40 ml/100lt). Se dejó actuar hasta obtener el punto de lirado, aproximadamente por 30 minutos. Se realizó el cortado de la cuajada en cubos de 1 cm de lado, con posterior mezclado y agitación suave, evitando que los granos de cuajada se rompieran, para favorecer el desuerado. La cuajada fue separada del suero en la mesa de desuerado, formando una masa que luego se colocó en moldes plásticos circulares de 5 cm de alto y 10 cm de diámetro, con perforaciones.



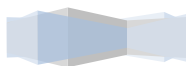
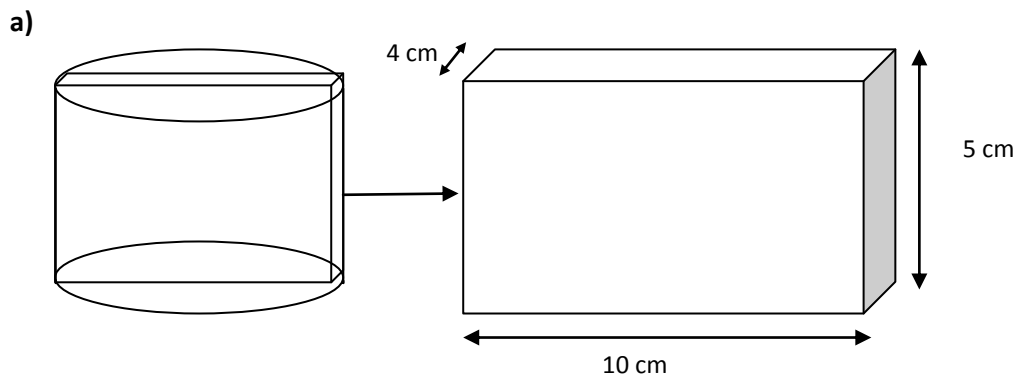
III.3.4. Tratamiento de salado

Los quesos fueron salados luego de desmoldarlos por adición de 3% de NaCl (sal fina común). La sal se distribuyó de forma uniforme mediante frotamiento de la misma por toda la superficie de los quesos. Posteriormente, fueron almacenados en una cámara de maduración a $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$ y $(90 \pm 5)\%$ de humedad relativa, y se voltearon cada 60 minutos durante las primeras 5 horas. Luego se voltearon una vez por día hasta el final del período de maduración estudiado.

III.3.5. Diseño Experimental

Para cada uno de los lotes experimentales, se extrajo un queso de la cámara de maduración en los siguientes tiempos: 5 hs, 1 y 4 días, 1, 2, 3 y 4 semanas. Se registró el peso usando balanza granataria marca Mettler modelo PC 8000 y se determinó el diámetro y la altura con regla graduada en mm en todos los tiempos de maduración estudiados.

Cada queso fue fraccionado como se muestra en la Figura III.1. Se tomó una rodaja vertical en el centro de la pieza de 4 cm de espesor (Figura III.1a). Se tomaron muestras de la misma con un diseño de superficie de respuesta ortogonal y rotable con 8 puntos centrales, tal como se muestra en la Figura III.1b en las celdas numeradas. Siendo los puntos proporcionales a la distancia radial y a la altura y eliminando 2 mm de las superficies exteriores. De cada muestra se determinó por duplicado el contenido de cloruro y de humedad.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

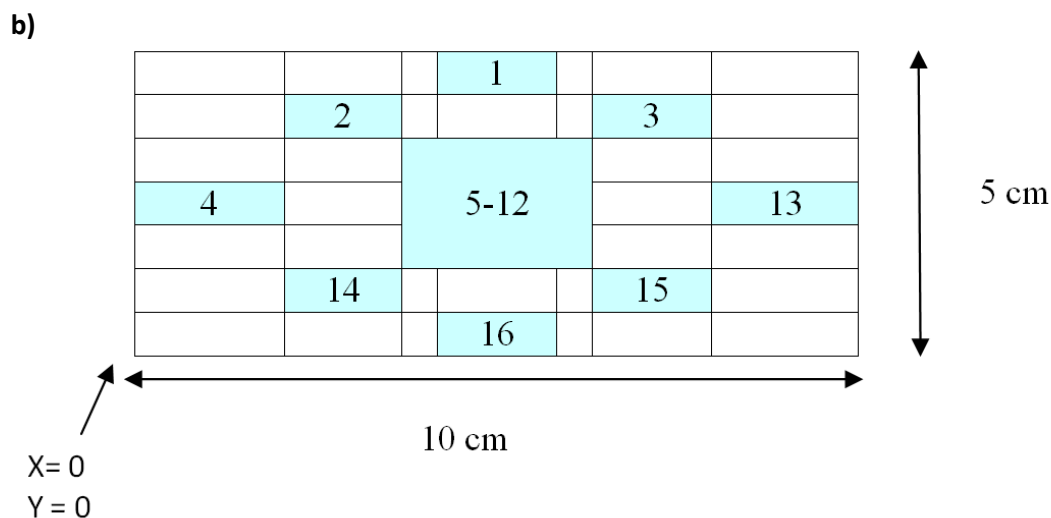


Figura III.1. a) Sistema de muestreo b) Representación de las porciones de muestreo teniendo en cuenta el diseño de superficie de respuesta.

III.3.6. Determinaciones analíticas

III.3.6.1. DETERMINACIÓN DE CLORURO

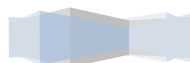
Se tomaron aproximadamente 0,5 gramos de cada muestra y se agregó 25 ml de agua destilada a 80°C y se homogeneizó con Omni-mixer, modelo 17106, por 2 minutos. La solución resultante se sometió a la determinación de Cloruros siguiendo el Método de Mohr que consiste en una titulación por precipitación a temperatura ambiente con una disolución valorada de nitrato de plata 0,1 N, formando un precipitado blanco poco soluble de cloruro de plata y empleando como indicador una disolución de cromato de potasio al 5 % m/v. En el punto final los iones cromato reaccionan con los iones plata formando un precipitado de color rojo anaranjado, escasamente soluble. Se disminuye el error en la titulación si se realiza dentro de un intervalo de pH cercano a la neutralidad, entre 7,0 y 8,0 (Chavez, 2006), por lo que previamente a la titulación con Nitrato de Plata se agregaron 3 gotas de fenolftaleína 1% en alcohol y se tituló con Carbonato de Sodio 0,1N hasta coloración rosada. Los resultados se expresaron como $[\text{gr NaCl} \cdot (\text{gr agua} + \text{gr NaCl})^{-1}]$.

III.3.6.2. CONTENIDO DE HUMEDAD

Se determinó gravimétricamente en estufa de vacío Modelo Shel Lab 1410 a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ y 25 pulgadas de mercurio hasta peso constante. Se expresó como $\text{gr agua} \cdot (\text{gr materia seca})^{-1}$.

III.3.7. Cálculo del área de la superficie de respuesta

Mediante la geometría diferencial de superficies (Piskunov, 1977) se calculó el área de las superficies curvas finitas obtenidas al ajustar los datos al modelo estadístico propuesto. En forma



general, si la superficie viene dada por la función explícita $z = f(x, y)$ entonces, dada una región S contenida en una superficie, su área resultará ser:

$$\text{Área} = \iint_S \sqrt{1 + \left(\frac{\partial f(x,y)}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial f(x,y)}{\partial y}\right)^2} \quad (1)$$

donde S es la región: $\begin{cases} 0 \text{ cm} \leq \text{altura} \leq 5 \text{ cm} \\ 0 \text{ cm} \leq \text{diámetro} \leq 10 \text{ cm} \end{cases}$

Para ello se utilizó el programa Maple, Versión 16, MaplesoftTM.

III.3.8. Análisis Estadístico

Los resultados se evaluaron utilizando el software Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.11, obteniendo la superficie de respuesta para cada variable.

Los factores que resultaron significativos mediante análisis de varianza (95% de confianza) se sometieron, a comparación múltiple de medias aplicando test LSD de Fisher (95% de confianza).

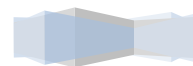
Con las áreas de las superficies calculadas para el NaCl se realizó un análisis de regresión simple para ajustar los datos al mejor modelo.

III.4. RESULTADOS Y DISCUSION

III.4.1. Análisis de las materias primas, rendimientos, pérdidas de peso y composición final de los quesos

Las leches de Marzo y Noviembre presentaron una acidez de $(0,138 \pm 0,005)$ % de ácido láctico, un pH inicial de $6,6 \pm 0,2$ y densidad promedio de $(1,029 \pm 0,002)$ $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, valores normales según bibliografía (Fox, 2000). El rendimiento quesero promedio de la elaboración de Marzo y Noviembre fue $11,5 \pm 0,1$ % (p/v), el contenido inicial promedio de sal en la cuajada fue de $(0,003 \pm 0,001)$ $[\text{gr NaCl}\cdot(\text{gr NaCl}+\text{gr agua})^{-1}]$ para la elaboración de Marzo y de $(0,0035 \pm 0,0005)$ $[\text{gr NaCl}\cdot(\text{gr NaCl}+\text{gr agua})^{-1}]$ para la de Noviembre, valores acordes con lo encontrado por otros autores (Gombau y Chiralt, 1994) y la humedad de 59 ± 1 % y $60,7 \pm 0,6$ % para las elaboraciones de Marzo y Noviembre, respectivamente. La cantidad de proteína en las cuajadas fueron de (18 ± 2) % y $(16,7 \pm 0,1)$ % para las elaboraciones de Marzo y Noviembre, respectivamente. La cantidad de grasa en las cuajadas fueron de $39,5 \pm 0,9$ (% en b.s.) para los quesos de Marzo y $40,1 \pm 0,6$ (% en b.s.) para los quesos de Noviembre. La pérdida de peso promedio de los quesos elaborados fue del 25 ± 6 % al cabo del tiempo de maduración estudiado.

La composición final de los quesos se presenta en la Tabla III.1. Según el Art. 605 del Código Alimentario Argentino (2014), podemos calificar a los quesos finales obtenidos como de mediana humedad (pasta semidura) y semigrasos.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Tabla III.1. Composición final de los quesos según la época del año

Quesos	Humedad (% p/p)	Grasa Total (% de b.s.)	Proteína Total (% p/p)	NaCl (% p/p)	pH
Marzo	42 ± 4	40 ± 2	26 ± 2	2,7 ± 0,1	6,0 ± 0,1
Noviembre	44 ± 4	41 ± 3	26 ± 5	2,4 ± 0,1	6,4 ± 0,1

III.4.2. Perfil de Distribución de Cloruro de Sodio

Se analizaron los datos de concentración de NaCl según el diseño de superficie propuesto y en la Tabla III.2 se muestran los p-valor de los factores (altura y diámetro) y sus interacciones para cada tiempo estudiado, como así también el p-valor para el test de falta de ajuste y las distintas repeticiones realizadas (bloques).

Tabla III.2. Análisis de varianza para la superficie de respuesta de la variable concentración de NaCl en los quesos evaluados.

Fuente de Variación	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇
A:Diámetro	0,1057	0,0000*	0,0000*	0,0004*	0,0000*	0,3291	0,1618
B:Altura	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,2889	0,1590	0,6301
AA	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
AB	0,6817	0,0000*	0,0155*	0,0010*	0,1182	0,3472	0,3415
BB	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
Bloques	0,5334	0,9600	0,1750	0,0671	0,0528	0,2350	0,0551
Falta de ajuste	0,0571	0,0560	0,2498	0,8041	0,6642	0,1632	0,2636

* Indica diferencia significativa ($\alpha=0,05$)

Analizando los resultados se observaron diferentes comportamientos para los tiempos estudiados. El test de ajuste en la Tabla ANOVA (Tabla III.2) da un p-valor mayor a 0,05 para todos los tiempos por lo tanto los modelos resultan adecuados para los datos observados, con un nivel de confianza del 95%. El análisis de los 4 muestreos realizados (bloques) también obtuvieron un p-valor mayor a 0,05 por lo que no existen diferencias significativas con un 95% de confianza entre las dos elaboraciones y los duplicados de las muestras de queso analizadas.

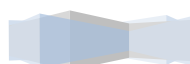
La predicción del perfil de sal en los quesos puede obtenerse a partir de la expresión matemática que representa la superficie de respuesta de concentración de NaCl, utilizando como parámetros la altura y el diámetro. Estas ecuaciones pueden escribirse como:

$$\text{Para } t_1: \text{NaCl} = 0,0366 + 0,0005 D - 0,0320 A - 0,00005 D^2 + 0,0074 A^2 - R^2 = 0,7843 \quad (2)$$

$$\text{Para } t_2: \text{NaCl} = 0,0624 - 0,0087 D - 0,0327 A + 0,0010 D^2 - 0,0011 D A + 0,0095 A^2 - R^2 = 0,9946 \quad (3)$$

$$\text{Para } t_3: \text{NaCl} = 0,0549 - 0,0086 D - 0,0118 A + 0,0008 D^2 - 0,0001 D A + 0,0035 A^2 - R^2 = 0,9939 \quad (4)$$

$$\text{Para } t_4: \text{NaCl} = 0,0705 - 0,0166 D - 0,0043 A + 0,0016 D^2 + 0,0004 D A + 0,0011 A^2 - R^2 = 0,9935 \quad (5)$$



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Para t_5 : $\text{NaCl} = 0,0592 - 0,0054 D - 0,0045 A + 0,0006 D^2 - 0,00006 D A + 0,0009 A^2 - R^2 = 0,9836$ (6)

Para t_6 : $\text{NaCl} = 0,0791 - 0,0085 D - 0,0047 A + 0,0009 D^2 - 0,00008 D A + 0,0011 A^2 - R^2 = 0,9509$ (7)

Para t_7 : $\text{NaCl} = 0,0776 - 0,0081 D - 0,0081 A + 0,0008 D^2 + 0,0001 D A + 0,0015 A^2 - R^2 = 0,9406$ (8)

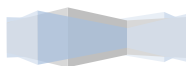
siendo: NaCl = concentración de cloruro de sodio [$\text{g NaCl} \cdot (\text{g agua} + \text{g NaCl})^{-1}$]; A = altura desde la base [cm]; D = diámetro [cm]

Estos modelos explican entre un 78,43% y un 99,46% de la variabilidad del sistema y se pueden observar en las superficies de respuesta mostradas en la Figura. III.2.

Para el primer tiempo muestreado (5 hs) se encontró una muy baja concentración de NaCl en todo el queso, en general. Es posible que en este corto tiempo recién la sal haya comenzado a disolverse en el agua del queso y no ha tenido el tiempo suficiente para difundir. Es probable que con el descarte de los 2 mm superficiales al muestrear se haya descartado la mayor cantidad de sal.

Con respecto a la altura, se encontró mayor concentración de sal en la cara superior, esto puede deberse a la influencia del efecto gravitacional (Santapaola et al., 2012). En efecto, al seguir produciéndose el fenómeno de sinéresis en esta primera etapa, el agua del queso es expulsada y tiende a salir por la cara inferior del mismo. Ésta diluye la cantidad de sal por lo que se obtiene una concentración menor de la misma en la parte inferior del queso y a su vez la cara superior del queso se deshidrata (Fig. III.7.a). En un trabajo anterior (Santapaola et al., 2012), se encontró un efecto contrario ya que los quesos se maduraban en cámara sobre bandejas sin drenaje, donde se formaba una solución salina que estaba en contacto con la cara inferior de los quesos durante dos horas y medias que era cuando se producía el primer volteo. Para evitar este fenómeno, en este trabajo, se utilizaron bandejas perforadas en la cámara de maduración y durante estas primeras 5 hs el volteo de los quesos se realizó cada hora. Es evidente que esta frecuencia no alcanza para obtener una concentración similar en la cara superior como en la inferior. Estos fenómenos pueden verse más claramente en la Figura III.3.

La distribución de sal en la dirección horizontal, al no verse favorecida por el efecto gravitacional, no se hace evidente, observándose un mínimo constituido por el eje de volteo (Figura III.2.a.). La inexistencia de gradientes en la dirección horizontal también puede verse en la Figura III.4 dónde se muestra una representación cualitativa del campo vectorial del gradiente de la función $\text{NaCl} = f(D,A)$ para el tiempo 1 (5hs).



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

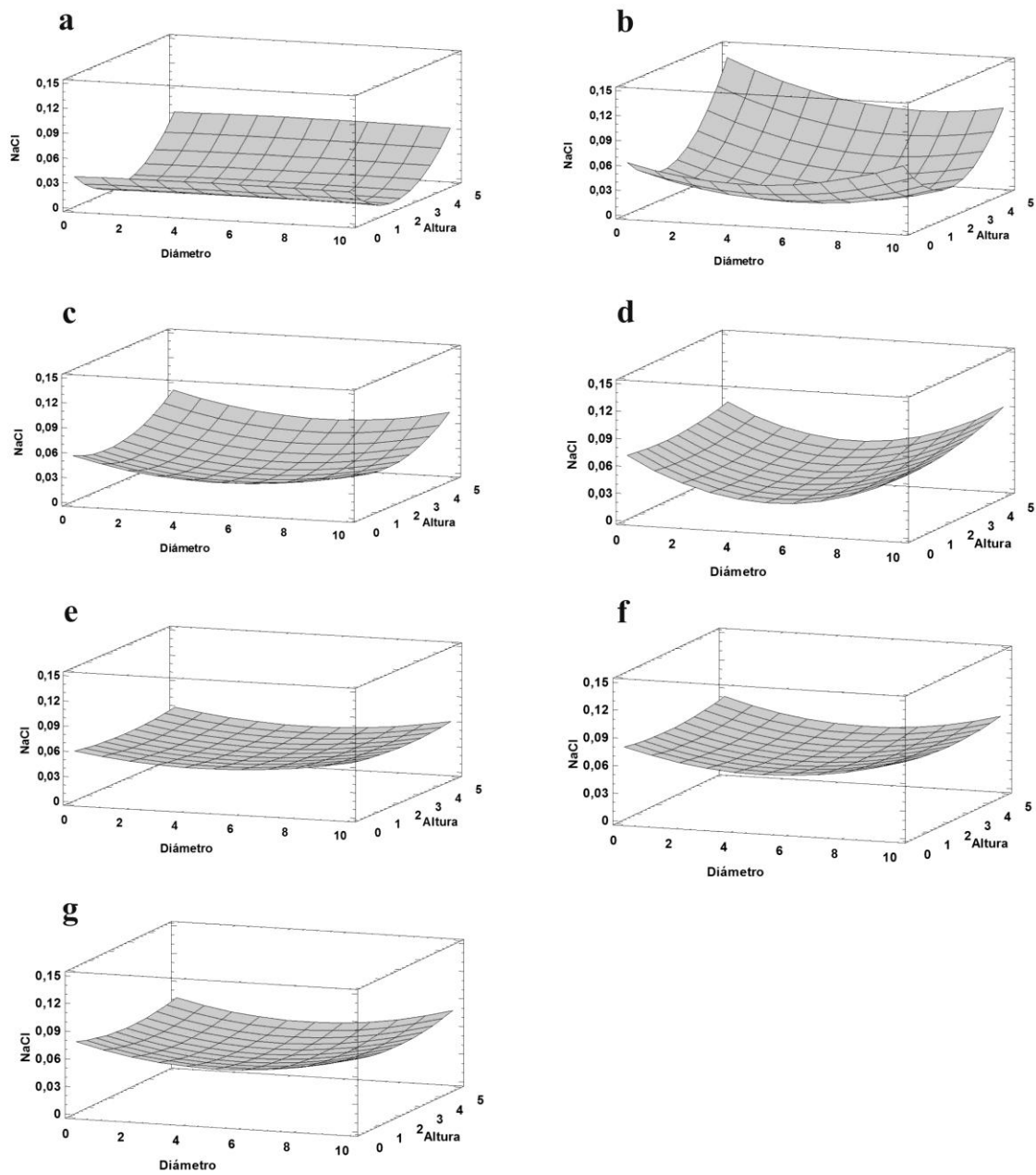
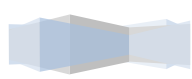


Figura III.2. Superficie de respuesta del cloruro sódico $[g \text{ NaCl} \cdot (g \text{ NaCl} + g \text{ agua})^{-1}]$ respecto al diámetro [cm] y la altura [cm] del queso. **a.** 5hs. **b.** 24 hs. **c.** 4 días. **d.** 1 semana. **e.** 2 semanas. **f.** 3 semanas. **g.** 4 semanas.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

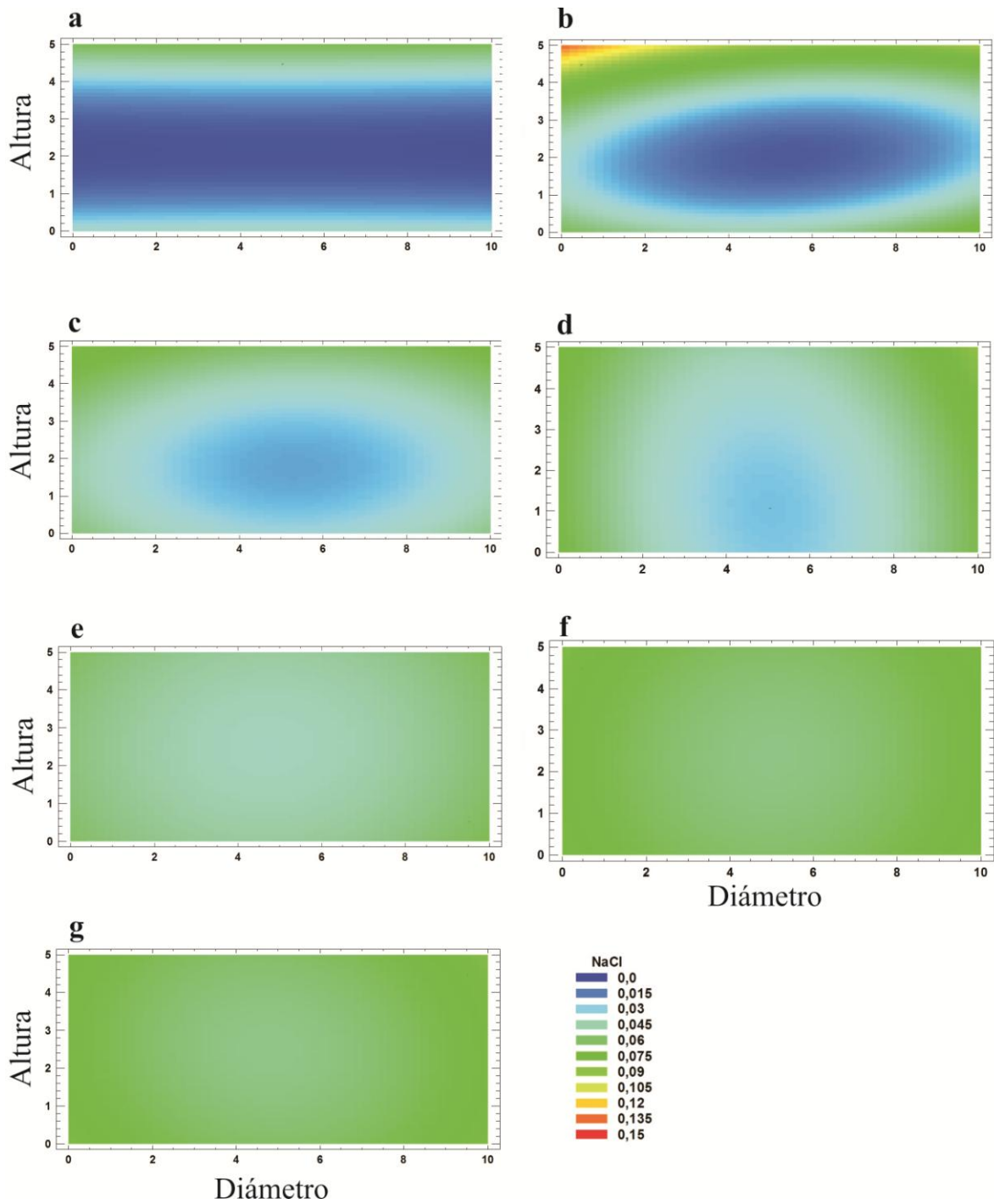
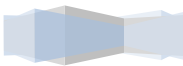


Figura III.3 Contornos de superficie del cloruro sódico [g NaCl.(g NaCl + g agua)⁻¹] respecto al diámetro [cm] y la altura [cm] de los quesos. a. 5hs. b. 24 hs. c. 4 días. d. 1 semana. e. 2 semanas. f. 3 semanas. g. 4 semanas.



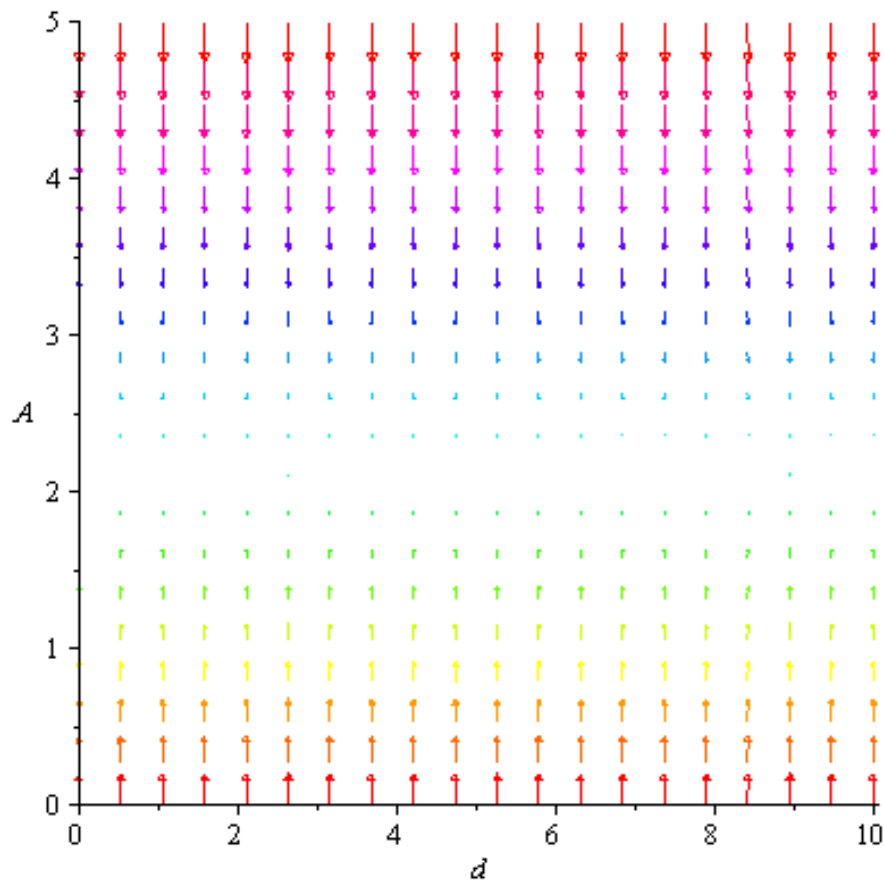


Figura III.4 Representación gráfica del campo vectorial de los gradientes de NaCl calculados a partir de la ecuación de superficie de respuesta para el tiempo 1 (Ecuación 2)

A partir del tiempo 2 (24 hs) y hasta el tiempo 5 (2 semanas) puede verse (Fig. III.2 y III.3) que los perfiles de distribución de NaCl se definen obteniéndose una zona de menor concentración cerca del centro geométrico del queso y una mayor concentración de sal en la zona exterior. Esto es similar a lo encontrado por otros autores cuando estudiaron otros métodos de salado, como salado por inmersión en salmuera y salado en salmuera en presencia de un campo de ultrasonido (Guinee and Fox, 1986; Sánchez et al., 2000), donde el nivel de sal en agua fue más alto en las capas superficiales con disminución en todas las direcciones desde la superficie hasta el centro. En otro trabajo de los mismos autores, Guinee y Fox (1983), en donde expresaron los resultados del porcentaje de concentración de sal con respecto al peso total, encontraron que las muestras de las capas exteriores redujeron su concentración por debajo de todas las otras muestras interiores estudiadas a los 45 días de maduración. A partir de esto sugieren que la relación sal en agua más que la relación sal en peso total sea la que se aproxima al equilibrio.

La concentración de NaCl en la capa externa superior de los quesos en el tiempo 2 (24 hs de maduración), especialmente en el vértice, zona en la que la penetración de NaCl se produjo en más de una dirección simultáneamente (Fig. III.3.b), fue mayor que la concentración de NaCl con que se salaron los quesos inicialmente [$3\% - 0,065 \text{ [g agua. (g agua+ g NaCl)}^{-1}]$]; un fenómeno similar ha sido observado en otros experimentos análogos de salado en salmuera y salado en

salmuera seguido por salado superficial (Guinee, 1985; Guinee y Fox, 1983). El efecto observado puede ser debido a una distorsión del proceso de difusión causado por precipitación salina de proteínas expuestas a muy altos niveles de sal (Guinee y Fox, 1986).

Debido al movimiento hacia el interior de la sal y la salida de agua hacia el exterior, los gradientes de concentración disminuyeron con el tiempo de maduración y el nivel de sal en las capas exteriores se redujo sensiblemente por debajo de los valores de salado inicial a partir del tiempo 4 (1 semana). Resultados similares también fueron encontrados por Guinee y Fox (1986).

Para las 2 semanas de maduración, la altura deja de ser un factor significativo, por lo tanto la distribución de sal en la dirección vertical es más homogénea, posiblemente debido a que el factor gravitacional ha tenido una influencia importante. A partir de ese momento se encontró que la concentración de agua de los quesos disminuye por lo que el efecto gravitacional también se reduce (Fig. III.7.e). La distribución en la dirección horizontal sigue siendo lenta y podría mejorarse aplicando un volteo horizontal en los quesos. Otra posible explicación, como también lo plantearon Guinee y Fox (1983), sea debido a la adherencia menos eficaz de sal seca a las superficies curvas; la concentración de sal obtenida a las 24 hs de maduración fue mayor para la porción 1 y 16 comparada con las 4 y 13 (0,065 y 0,028 frente a 0,035 y 0,025, respectivamente, expresadas en $[g\ NaCl.(g\ NaCl+ g\ agua)^{-1}]$, dando así un gradiente más nítido en la dirección vertical que en la dirección horizontal (Figura III.5) que es la fuerza impulsora para la difusión.

En los tiempos 6 y 7, tres y cuatro semanas de maduración respectivamente, los únicos factores que siguen siendo significativos son las interacciones de altura y las interacciones de diámetro. Por lo tanto, podríamos decir que existe una tendencia a la homogenización de la concentración de NaCl en toda la masa del queso. Para verificar este fenómeno se realizó un análisis de varianza para el factor Porciones de muestreo para los datos de NaCl del tiempo 6 y 7. Se aplicó un test de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher (95% de confianza) para la comparación múltiple de medias.

Comparando las medias de concentración de cloruro en las distintas muestras para el tiempo 6 (3 semanas) se apreciaron 4 zonas homogéneas (Tabla III.3), la zona I en la parte media del queso (5-12), la zona II formada por la corteza superior e inferior (16 y 1), la zona III, porción intermedia entre la corteza y el centro (2, 3, 14 y 15) y la zona IV en la parte exterior media (4 y 13).

Para un tiempo de maduración de 4 semanas se mantiene el mismo perfil de 4 zonas homogéneas (Tabla III.4) que para el tiempo estudiado anterior aunque se nota una disminución de la concentración de las porciones de muestreo 1, 2 y 4 y un aumento de la concentración de las porciones de muestreo 3, 13 y 14. Describiendo una difusión horizontal del NaCl. Obviamente, la variación de NaCl en diferentes direcciones es debido a las diferentes distancias a las que tuvo que difundir el NaCl en una determinada dirección.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

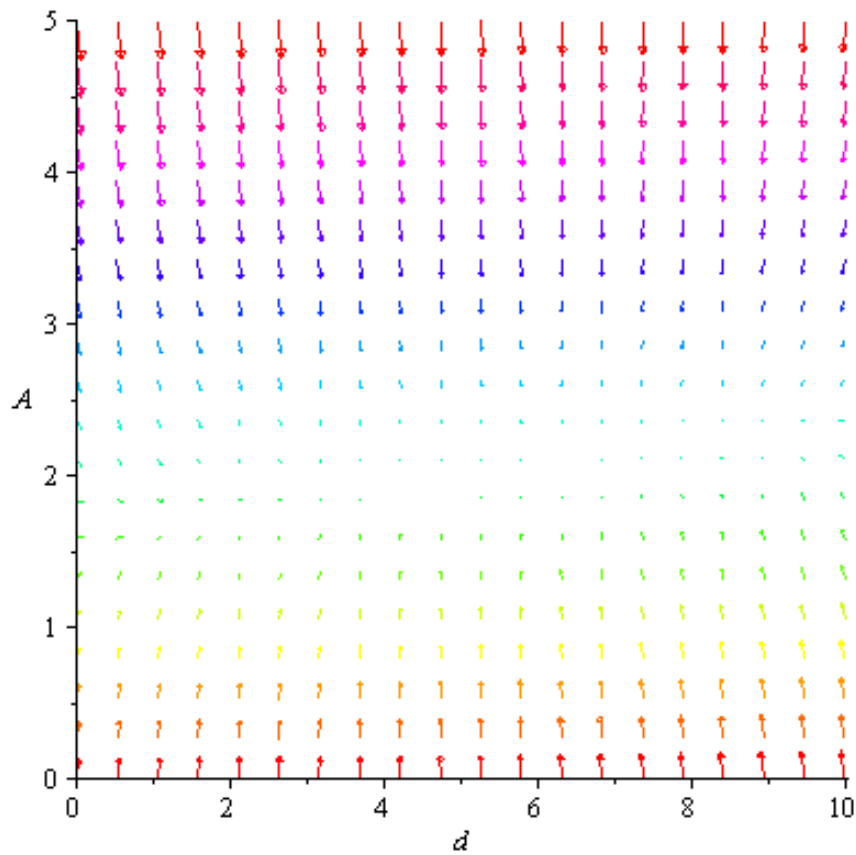


Figura III.5. Representación gráfica del campo vectorial de los gradientes de NaCl calculados a partir de la ecuación de superficie de respuesta para el tiempo 2 (Ecuación 3)

Tabla III.3 Contraste múltiple de Medias con diferencia mínima significativa (LSD, 95% de confianza) para el cloruro en las distintas muestras para un tiempo de maduración de 3 semanas.

Porciones de muestreo	Media [g ClNa.(g agua+g ClNa) ⁻¹]	Grupos Homogéneos
5-12	0,0521	A*
16	0,0563	B
1	0,0584	B
14	0,0617	C
3	0,0618	C
15	0,0624	C
2	0,0625	C
13	0,0700	D
4	0,0715	D

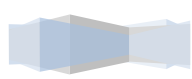


Tabla III.4. Contraste múltiple de Medias con diferencia mínima significativa (LSD, 95% de confianza) para el cloruro en las distintas muestras para un tiempo de maduración de 4 semanas.

Porciones de muestreo	Media [g ClNa.(g agua+g ClNa) ⁻¹]	Grupos Homogéneos
5-12	0,0514	A*
1	0,0559	B
16	0,0564	B
2	0,0613	B C
15	0,0621	C
14	0,0624	C
3	0,0637	C
4	0,0668	C D
13	0,0719	D

Guinee y Fox (1986, 1983) también encontraron que mientras se alcanzaba el equilibrio en una dirección existía relativamente amplia variación en otras direcciones, por ejemplo, quesos cilíndricos de 35 días de maduración (5 días en salmuera y almacenado en cámara refrigerada 30 días), el equilibrio era esencialmente alcanzado en todos los planos verticales mientras existía extensa variación en agrupaciones horizontales. Cuando estudiaron el proceso de maduración en quesos Romano salados por inmersión en salmuera seguido de salado seco superficial encontraron que el equilibrio fue alcanzado a los 35 -40 días para la dirección vertical mientras que no fue alcanzado en la dirección horizontal a los 122 días. Al contrario, Zhu et al. (2011) cuando estudiaron la distribución espacial de NaCl en queso Feta madurado por 60 días, encontraron que no existía diferencia significativa en la concentración de NaCl entre las porciones de una misma altura durante todo el proceso de maduración estudiado. A su vez, en la dirección vertical encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las tres diferentes capas estudiadas hasta el día 20 de maduración, encontrando que la capa inferior era la que mayor concentración de sal obtenía. Este resultado lo explican por acción de la fuerza de gravedad, ya que los quesos son madurados en moldes sumergidos en salmuera. Hay que tener en cuenta que la unidad utilizada en este trabajo para medir la concentración de NaCl fue en mg de NaCl por g de queso. Al no tenerse en cuenta la pérdida de humedad se distorsionan los perfiles.

Para normalizar las diferencias entre el contenido de sal de los quesos en estos dos tiempos finales, se calculó la relación (R) entre la concentración local de cada zona y la concentración media del queso. Estos resultados pueden observarse en la Tabla III.5. En estos resultados también puede verse que la relación R no varía para las zona I y II, que son las porciones de muestreo centrales y de las caras superior e inferior, relacionadas con la distribución en vertical y una pequeña variación en las zonas III y IV, relacionadas con las porciones de muestreo en la dirección horizontal, donde se verifica un movimiento de materia en esta dirección.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Tabla III.5. Concentración de sal media y la relación (R) entre la concentración local y la media del queso, para cada zona.

Zona	g NaCl.(g agua+g NaCl) ⁻¹ (t ₆)	g NaCl.(g agua+g NaCl) ⁻¹ (t ₇)	R - Sal (t ₆)	R - Sal (t ₇)
I	0,052 ± 0,001	0,051 ± 0,004	0,86	0,86
II	0,057 ± 0,001	0,056 ± 0,002	0,94	0,94
III	0,062 ± 0,001	0,062 ± 0,003	1,02	1,04
IV	0,071 ± 0,001	0,069 ± 0,006	1,17	1,16

Mientras que la absorción de sal es un evento que ocurre relativamente rápido, la tasa de desarrollo de una concentración de sal uniforme en toda la masa del queso es un proceso lento (Sánchez et al., 2000).

III.4.3. Perfil de Distribución de Agua

Se analizaron los datos de Humedad según el diseño de superficie propuesto y en la Tabla III.6 se muestran los p-valor de los factores (altura y diámetro) y sus interacciones para cada tiempo estudiado, como así también el p-valor para el test de falta de ajuste y las distintas repeticiones realizadas (bloques).

Tabla III.6. Análisis de varianza para la superficie de respuesta de la variable humedad en los quesos evaluados.

Fuente de Variación	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇
A:Diámetro	0,0028*	0,0000*	0,0027*	0,0219*	0,2410	0,0006*	0,0114*
B:Altura	0,0369*	0,0187*	0,0000*	0,0001*	0,0007*	0,0000*	0,0006*
AA	0,8006	0,0000*	0,7989	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
AB	0,1127	0,1150	0,4665	0,2184	0,7934	0,4079	0,2713
BB	0,0001*	0,0000*	0,0009*	0,0305*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
Bloques	0,6654	0,0518	0,0579	0,6591	0,1368	0,9624	0,0511
Falta de ajuste	0,9936	0,0503	0,1828	0,9736	0,8187	0,0810	0,0546

* Indica diferencia significativa ($\alpha=0,05$)

El análisis de superficie de respuesta mostró las siguientes ecuaciones de predicción del perfil de humedad en los quesos para los diferentes tiempos estudiados:

$$\text{Para } t_1: H = 1,0329 + 0,0005 D + 0,1059 A - 0,0003 D^2 + 0,0057 D A - 0,0304 A^2 - R^2 = 0,7070 \quad (9)$$

$$\text{Para } t_2: H = 1,1528 - 0,0087 D + 0,0630 A + 0,0015 D^2 - 0,0010 D A - 0,0123 A^2 - R^2 = 0,7996 \quad (10)$$

$$\text{Para } t_3: H = 1,0223 + 0,0064 D - 0,0039 A - 0,0001 D^2 - 0,0008 D A + 0,0065 A^2 - R^2 = 0,9199 \quad (11)$$



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

$$\text{Para } t_4: H = 0,8016 + 0,0427 D + 0,0755 A - 0,0041 D^2 - 0,0025 D A - 0,0076 A^2 - R^2 = 0,8016 \quad (12)$$

$$\text{Para } t_5: H = 0,5477 + 0,1071 D + 0,1117 A - 0,0106 D^2 + 0,0004 D A - 0,0195 A^2 - R^2 = 0,9523 \quad (13)$$

$$\text{Para } t_6: H = 0,4411 + 0,1115 D + 0,1554 A - 0,0120 D^2 + 0,0011 D A - 0,0268 A^2 - R^2 = 0,9429 \quad (14)$$

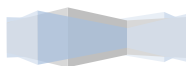
$$\text{Para } t_7: H = 0,2548 + 0,1407 D + 0,2156 A - 0,0140 D^2 - 0,0011 D A - 0,0402 A^2 - R^2 = 0,9460 \quad (15)$$

donde: H = humedad [g agua.(g ms)⁻¹]; D = diámetro (cm); A = altura desde la base (cm).

El test de Falta de ajuste en la Tabla ANOVA (Tabla III.6) da un p-valor > 0,05 para todos los diseños analizados, por lo tanto los modelos obtenidos resultan adecuados para los datos observados con un nivel de confianza del 95%. Dichos modelos explican entre un 70,70% y un 95,23% de la variabilidad del sistema (R² entre 0,7070 y 0,9523) en humedad y se pueden observar en las superficies de respuesta mostradas en la Figura III.6.

Para el primer tiempo estudiado (5 hs) se observó una mayor concentración de agua en la zona central del queso, a lo largo de todo el diámetro con preponderancia en uno de los lados. Comparando la cara superior e inferior, se encontró mayor concentración de agua en la zona inferior del queso. Esto es debido a que durante las primeras horas, posteriores al salado, existe una pérdida de suero por contracción de la masa, como consecuencia del efecto gravitacional. En efecto, se encontró que en nuestros quesos se produjo una contracción del diámetro del 7% ± 2% y una contracción de la altura del 11% ± 3%. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por otros autores (Gombau y Chiralt, 1994). Además, en el salado seco superficial los quesos se encuentran en contacto con concentraciones elevadas de sal lo que ocasiona una deshidratación osmótica superficial, por lo que se obtiene un menor contenido de agua en la zona externa de los mismos y hubo un aumento del nivel de humedad desde la superficie hacia el interior de los quesos. Esto es similar a los resultados encontrados en el salado por inmersión en salmuera (Guinee and Fox, 1983, 1986), dado que la pérdida de humedad durante el proceso de salado es una consecuencia de la absorción de sal (Geurts et al, 1974; Guinee, 1985; Guinee y Fox, 1986b).

En este primer tiempo también se encontraron una alta variabilidad en los datos, tanto para la distribución de NaCl como de agua. Esto se expresó a través del estadístico R-cuadrado, ya que para este tiempo se encontraron los valores más bajos del ajuste del modelo. Esto se debe, posiblemente, a que termodinámicamente el sistema "queso" está más alejado del equilibrio y se encuentra en el período de inducción (Guamis et al., 1997), por lo que los datos tienen una alta variabilidad para la muestra y sus repeticiones. Esta alta variabilidad también fue encontrada por otros autores (Guinee and Fox, 1986) donde hubo una considerable variación de humedad entre las muestras, como resultado de la variación de NaCl.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

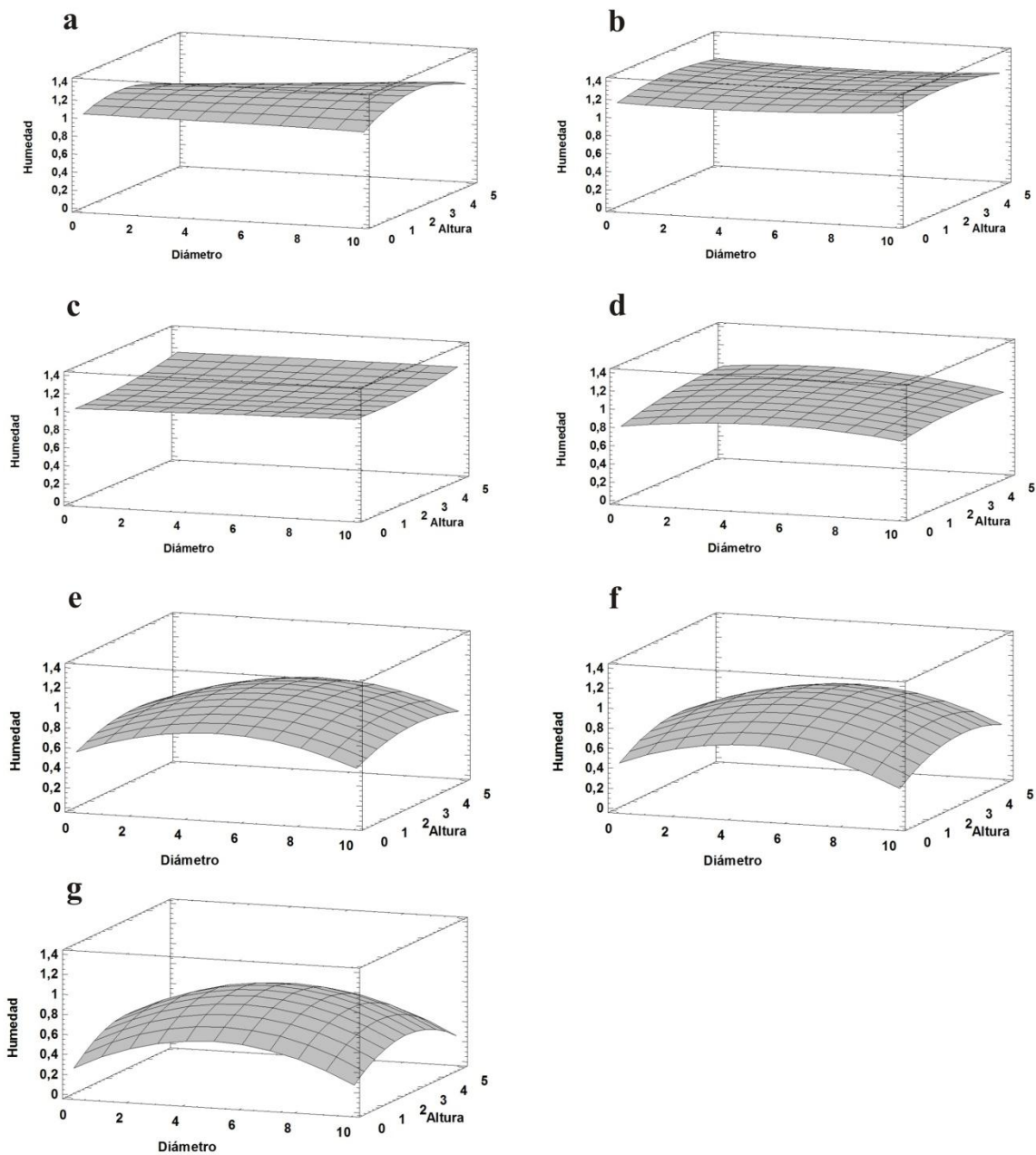
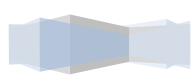


Figura III.6. Superficies de respuesta de humedad [$\text{g agua} \cdot (\text{g materia seca})^{-1}$] respecto al diámetro (cm) y la altura (cm) de los quesos. **hs. c.** 4 días. **d.** 1 semana. **e.** 2 semanas. **f.** 3 semanas. **g.** 4 semanas.

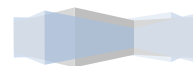
Para el segundo tiempo estudiado (24 hs) se puede observar que existe un aumento de la concentración de agua en toda la masa del queso, con una distribución aparentemente homogénea (entre $1,2$ y $1,3 \text{ g agua} \cdot (\text{g materia seca})^{-1}$) de humedad. Estos perfiles se pueden observar con mayor facilidad en la Figura III.7 donde se muestran los contornos de superficie para cada tiempo. Luo et al. (2013), encontraron también un aumento de la concentración de agua en la corteza durante el salado por inmersión en salmuera con y sin el agregado de Ca, obteniéndose quesos con cortezas suaves y en donde las concentraciones de agua para un día de salado en la corteza, en la parte intermedia y en la parte central eran entre 55 y 57% de humedad, valores acordes con los encontrados en este trabajo. Este fenómeno se puede ver favorecido también por



el proceso de desuerado teniendo en cuenta que no hay una etapa intensa de prensado en el proceso de elaboración de este tipo de quesos. En efecto, como encontraron Lu y McMahon (2015) cuando estudiaron el efecto del salado con NaCl en la expulsión de suero en queso Cheddar, al comienzo del salado, la relación entre el volumen de cuajada exterior (con alta concentración de NaCl) y el interior (con baja concentración de NaCl) es relativamente pequeña. Por lo tanto, el ambiente químico que rodea la matriz de cuajada es dominado por una baja concentración de sal. Estas cuajadas conservan la humedad con muy poca expulsión de suero, incluso cuando la sal difunde en el interior de la misma, ya que bajos contenidos de sal resultan en una paracaseína más hidratada con débil interacción entre proteínas (Kindstedt, 2007). A medida que pasa el tiempo de salado o maduración, la concentración de sal en todo el volumen de la cuajada aumenta debido al proceso de difusión. La porción del volumen de cuajada con alta concentración de sal aumenta y, cuando hay suficiente volumen que tiene una alta concentración de sal, se produce una precipitación salina de las proteínas y un aumento de las interacciones hidrofóbicas proteína-proteína, con la consecuente contracción de la matriz proteica y expulsión del suero de la cuajada. Prasad y Álvarez (1999) informaron la reducción en el contenido de humedad debido a las interacciones de NaCl con paracaseína durante el salado en salmuera, que resultó importante en la regulación de la textura de queso. McMahon et al. (2009) demostraron la importancia de las interacciones hidrofóbicas proteína-proteína durante salado de queso Feta a 22°C, que podría causar tanto una expulsión del suero del queso como una disminución en el contenido de humedad.

Si observamos la región central de los quesos estudiados (Figuras III.6 y III.7), podemos ver que el contenido de humedad disminuye a lo largo del período de maduración. Esto concuerda con lo encontrado también por otros autores (Luo et al., 2013; Guinee y Fox, 1983), en donde la disminución del contenido de humedad resulta de la difusión de agua a través de la matriz del queso con el objetivo de recuperar el equilibrio osmótico (Guinee y Fox, 1986b). Simal et al. (2001) y Pajonk et al. (2003) escribieron también sobre el contenido de agua y NaCl del queso en relación con la distancia desde la superficie del queso. Ambos investigadores encontraron que el contenido de agua es más alto en el centro y más bajo en la superficie del queso, mientras que el contenido de NaCl mostró un comportamiento contrario en forma análoga a lo informado en este trabajo.

Guinee y Fox (1983) encontraron que durante todo el estudio del proceso de maduración de quesos (122 días) salados por inmersión en salmuera seguido por salado seco superficial, las porciones externas de los quesos tenían menor concentración de agua que las porciones internas. El contenido de humedad disminuía rápidamente durante los dos primeros días y durante ese período desarrolló corteza y el contenido de humedad de la misma permaneció casi constante hasta aproximadamente los 70 días de maduración.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

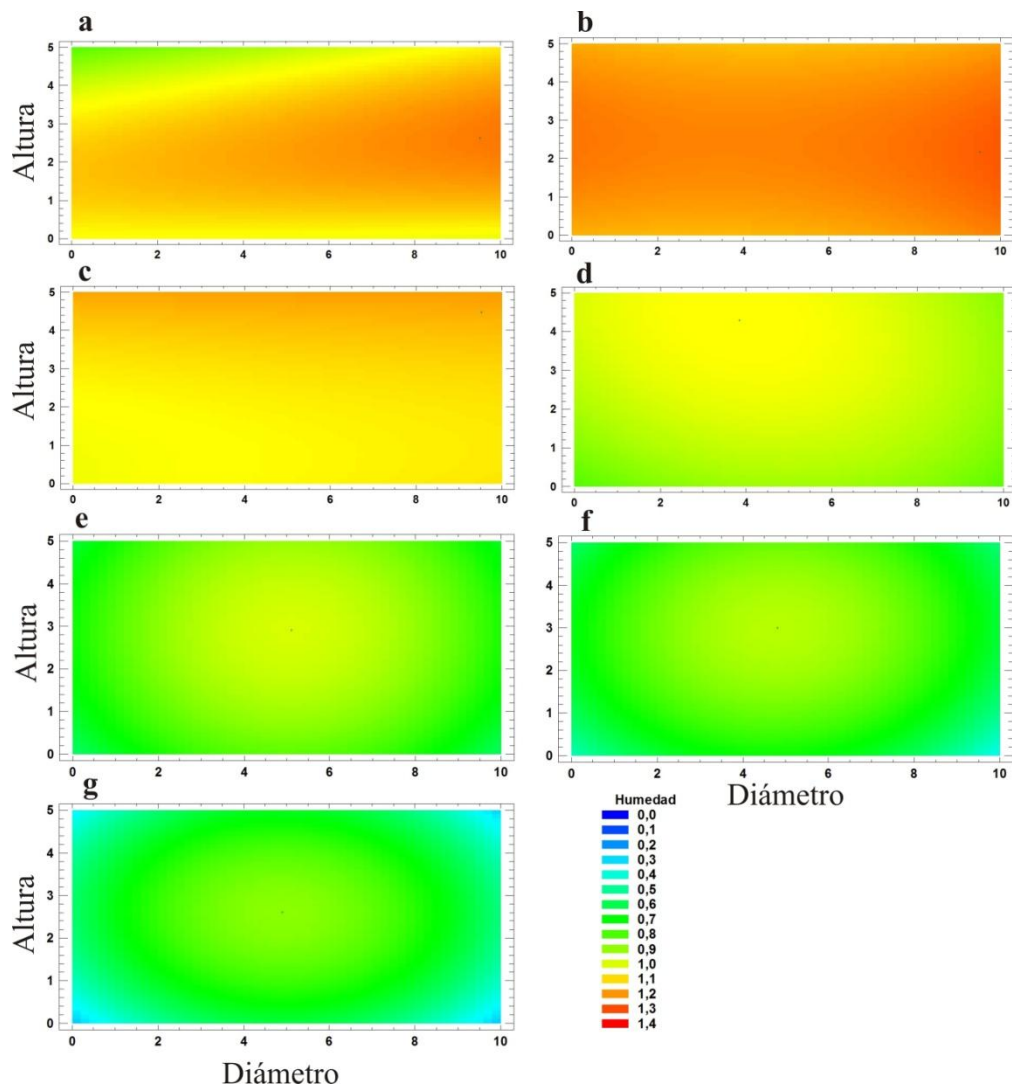
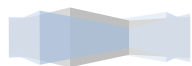


Figura III.7. Contornos de superficie de Humedad [g agua.(g ms)⁻¹] respecto al diámetro [cm] y la altura [cm] de los quesos. **a.** 5hs. **b.** 24 hs. **c.** 4 días. **d.** 1 semana. **e.** 2 semanas. **f.** 3 semanas. **g.** 4 semanas.

A partir de las 3 semanas y con mayor preponderancia hacia el mes de maduración se empieza a invertir este fenómeno observándose que las superficies externas comienzan a deshidratarse y que esa deshidratación se inicia en los vértices. En efecto, en quesos no envasados, el nivel de agua en las regiones exteriores depende del estado de equilibrio de humedad durante la maduración, es decir, de la relación de la velocidad de evaporación de la humedad de la corteza y de la difusión de humedad desde el interior. Durante las primeras etapas de maduración, la concentración de sal es significativamente mayor cerca de la superficie del queso. En consecuencia, en la masa del queso la difusión de agua desde el centro hacia el exterior prevalece sobre la evaporación del agua superficial. Esto hace que la diferencia en humedad entre la parte externa y los lugares más centrales se equilibren en los tiempos iniciales de maduración. Debido a la ubicación de los quesos en la cámara durante la maduración y a la velocidad de circulación del aire, existen diferencias en la influencia de evaporación del agua y se produce una competencia entre la fuerza convectiva de secado y la difusión del agua dentro de los quesos. Por lo tanto los



gradientes no muestran la misma disminución. A medida que avanza el proceso de maduración, el potencial químico del NaCl se equilibra y esto disminuye la difusión de agua hacia las zonas externas. Por lo tanto el proceso de evaporación se convertirá en dominante. Esto ocurre a partir de la tercera semana de maduración, lo que lleva a un aumento de la diferencia de humedad entre los bordes y los lugares centrales. Este mismo tipo de comportamiento fue encontrado por Vandenberghe et al., (2014) en queso Gouda, donde los perfiles de humedad disminuían entre la semana 11 y 14 y luego aumentaban hasta la semana 19. Tabla et al. (2015), también encontraron a partir de los 30 días de maduración en quesos frescos de oveja, una significativa mayor cantidad de sólidos totales en la corteza de los quesos que en el centro y la zona interna del mismo. Pavia et al. (2000), también encontraron en queso tipo Manchego salado por impregnación a vacío que la zona más externa es la de menor contenido de humedad, gradientes típicos de quesos madurados sin ninguna protección. Gombau y Chiralt (1994) encontraron durante la maduración de queso Manchego salado por inmersión en salmuera una disminución global del contenido de humedad no siendo uniforme en todo el queso ya que la parte externa presentó menor contenido de agua durante todo el período estudiado (135 días). Guinee y Fox (1986b) encontraron que la corteza prácticamente mantiene su humedad o disminuye muy poco cuando estudiaron queso Romano madurado sin envase y cuando lo envasaron (Cryovac) (Guinee y Fox, 1986), la envoltura era impermeable al agua y por lo tanto la mayor parte de la pérdida de humedad se retuvo dentro del envase por lo que obviamente el contenido de humedad de la corteza aumentó y en un período de maduración de 80-90 días, la humedad no se había equilibrado plenamente en cualquiera de los quesos ensayados. En otro trabajo (Guinee y Fox, 1983) encontraron a partir de los 70 días y hasta los 122 días de maduración una disminución del contenido de humedad y lo relacionaron con un aumento de la circulación del aire debido a la disminución de la cantidad de quesos en cámara con la consecuente mayor evaporación de los quesos que quedan. Esto también puede haber sucedido en esta investigación, especialmente al mes de maduración donde quedaban muy pocos quesos en cámara.

III.4.4. Evolución de la distribución de NaCl y humedad

Para evaluar la evolución de la distribución del NaCl y del agua se calcularon las áreas de las ecuaciones de superficies encontradas al ajustar los datos (Ecuaciones 2-15). Las áreas calculadas para los tiempos estudiados se muestran en la Tabla III.7.

Teniendo en cuenta que la superficie mínima que se obtendría para una superficie plana es de 50 cm² podemos decir que para el NaCl a partir de los 14 días de maduración obtenemos valores cercanos a la misma y que las variaciones en los días siguientes estudiados son mínimas. Esto puede verse en la Figura III.8, donde los datos se ajustan, sin considerar el período de inducción (tiempo de 5 hs), a una ecuación del tipo $Y = a + b/X$, con una alta significación estadística ($R^2 = 0,992$). Como puede verse a partir de los 14 días de maduración, la variación de las áreas es mínima y muy cercana al valor mínimo correspondiente a una superficie plana. Según la predicción de este modelo, dicha área se alcanzaría a los 35 días de maduración.

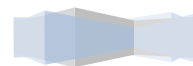


Tabla III.7. Áreas de las superficies de respuesta ajustada a los datos (Ec. 2-15)

Tiempo (días)	Área NaCl (cm ²)	Área Humedad (cm ²)
0,21	50,0123	50,2113
1	50,0224	50,0343
4	50,0038	50,0356
7	50,0027	50,0438
14	50,0005	50,1990
21	50,0009	50,2869
28	50,0010	50,5008

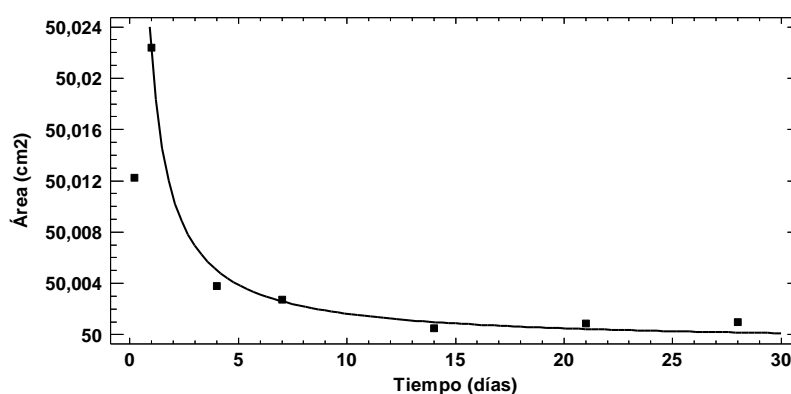
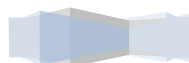


Figura III.8. Variación del área de las superficies de respuesta del NaCl con respecto al tiempo ($y = 49,999 + 0,023/x$; $R^2 = 0,992$). El primer tiempo considerado de 5 hs de maduración está en el período de inducción y no es considerado en la ecuación de ajuste.

Por lo tanto, hay un fuerte gradiente de concentración de sal dentro de los quesos al comienzo del período de maduración, pero éste desaparece gradualmente durante el almacenamiento y si la maduración es lo suficientemente larga, la magnitud neta de estos gradientes en todas direcciones disminuirá con el tiempo. Esto concuerda con lo encontrado por varios autores para otros métodos de salados estudiados como inmersión en salmuera, impregnación a vacío, salado en salmuera con altas presiones, salado en salmuera con aplicación de ultrasonido (Gombau y Chiralt, 1994; Guamis et al., 1997; Pavia et al., 2000; Messens et al., 1999; Sánchez et al., 2000). Guinee y Fox (1986) en queso Romano cilíndrico salado por inmersión en NaCl al 19,5% durante 5 días y posteriormente almacenado a 10°C y 85% de humedad, encontraron que estos gradientes a los 35 días de maduración (5 días de salado más 30 días de almacenamiento) poseen un coeficiente de variación del 18% y en este caso para los 30 días de maduración poseen un coeficiente de variación del 13 %. En este mismo trabajo evaluaron los perfiles de distribución hasta los 88 días de maduración (5 días de salado más 83 días de almacenamiento) y el coeficiente de variación disminuyó hasta el 4,5%. Tabla et al. (2015), también encontraron que la concentración de sal disminuye con la distancia desde la superficie del queso, durante los primeros días de maduración, cuando estudiaron el salado en salmuera en quesos frescos de



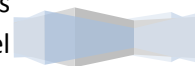
oveja. No obstante, ese gradiente desapareció con el tiempo. No encontraron diferencias significativas entre las porciones de queso muestreadas a los 15 días de maduración y a los 30 días de maduración, este gradiente era invertido, por lo que los valores de NaCl en la corteza eran más bajos que los registrados en la zona interna del mismo. Esto puede deberse a que expresaron los resultados de concentración de sal en % p/p, tal como lo hicieron Guinee y Fox (1983) mientras que cuando expresaron la concentración de sal como sal en agua, obtuvieron que los valores de la corteza fueron más altos que en el interior, en todos los casos.

Con respecto a la evolución de la distribución de agua, se puede ver que las áreas mínimas se alcanzan entre las 24 hs y la primera semana de maduración (Tabla III.7), aunque no llegan a alcanzar el valor ideal de una superficie plana. A partir de entonces se produce un aumento progresivo y cada vez mayor de las áreas.

Por los resultados obtenidos, la humedad tiende a equilibrarse al comienzo del período de maduración (1-7 días) para este tipo de salado. Luego, comienza el período de deshidratación de los quesos. Tabla et al. (2015), no encontraron diferencias significativas en la cantidad de sólidos totales en las diferentes zonas de los quesos frescos de ovejas estudiados desde las 12 hs posteriores a la salida de la salmuera hasta los 15 días de maduración. De hecho, el equilibrio parece ser alcanzado entre el movimiento osmótico de las moléculas de agua inducido por la sal y la respuesta de la red de proteínas a la sal de modo que el suero cesa prácticamente su expulsión si no se aplica una fuerza externa durante el prensado (Lu y McMahon, 2015). Además, la microestructura de un queso de alta humedad (por ejemplo en el comienzo de la maduración) tiene una alta porosidad, de modo que la fase líquida puede ser forzada a salir fácilmente por el gradiente de difusión producido por la evaporación de agua. Como el contenido de agua en el queso disminuye, su microestructura se hace más compacta. Por lo tanto, la compactación queso-matriz puede también restringir el movimiento de la fase líquida, desacelerando a su vez el proceso migración- evaporación (Buffa et al, 2003).

Este resultado podría indicar que tanto las resistencias internas y externas a la transferencia de masa controlan el proceso, en los distintos tiempos de maduración. En efecto, como también encontraron Castell-Palou et al. (2012), en las primeras etapas del proceso, la distribución local de humedad mostró perfiles ligeramente planos, con tendencia a estabilizarse en posiciones cercanas a la superficie de la muestra, lo que es indicativo del probable equilibrio de humedad entre la superficie sólida y el secado al aire. Adicionalmente, cuando el proceso de deshidratación avanzaba, el contenido de humedad en la posición central disminuía y se observó un considerable gradiente de concentración de humedad en el interior del queso. Estas observaciones podrían ser indicativas de un flujo de masa controlado principalmente por la resistencia interna a la transferencia de masa, lo que sugiere que la resistencia externa podría ser insignificante hasta este período de maduración (aproximadamente 2 semanas). A partir de los 14 días comienza un secado superficial por lo que la resistencia externa a la transferencia de materia podría ser el factor preponderante para este estadio.

A partir de estos resultados, es obvio que para una variedad de queso dada las concentraciones de NaCl y agua en cualquier etapa de maduración, así como el momento en que se alcanza el equilibrio, depende del método de salado, de las condiciones de maduración y de las dimensiones



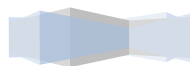
del queso. Además, al disminuir la concentración de agua en la matriz del queso, el movimiento de los iones dentro del queso se ve obstaculizada por un efecto de fricción debido a la presencia de glóbulos de grasa y proteínas agregadas juntamente con una compacta y más firme microestructura de la matriz del queso (Buffa et al., 2003; Flourey et al., 2009; Luo et al., 2013; Velázquez-Varela et al., 2014). Esta hipótesis puede explicar el lento cambio en los perfiles de NaCl a partir de las 3 semanas. En efecto, según estudios realizados por Pierre et al. (1999) la microestructura del queso fresco de cabra consiste de una red lisa de cadenas de paracaseína procedentes de la acción del cuajo sobre micelas acidificadas (pH 4,2), con los glóbulos de grasa uniformemente distribuidos y poros grandes entre las hebras que encierra grandes cantidades de agua. Esta estructura abierta parece incluir la fracción líquida acuosa como una fase continua. A medida que avanza la maduración, el contenido de agua se reduce, por lo que la microestructura del queso cambia volviéndose más compacta, con muy pocas cavidades restantes entre las hebras de paracaseína. Esto también pone en relieve la movilidad inicial de la red y la capacidad de las hebras para organizar y formar una red más compacta. Esto resulta en una microestructura en la cual las hebras de paracaseína y glóbulos de grasa se encuentran más estrechamente empaquetados. El agua residual está presente como una fase dispersa, contenida en parte en las cavidades residuales y en parte en las hebras mismas de paracaseína. Tal dispersión podría explicar una disponibilidad menor de agua para solutos, una porosidad menor, con disminución de la velocidad de difusión de agua y sal, conduciendo a una variación reducida en el contenido de agua y NaCl al final de la maduración. Además, el ingreso de iones cloruro y sodio al interior del queso, tiene un gran impacto en la matriz proteica y en los glóbulos de grasa. En efecto, la adición de sal aumenta la fuerza iónica y disminuye el pKa de las proteínas, modificando también la energía libre superficial (tensión superficial) de los glóbulos de grasa (Lopez et al., 2007).

III.5. CONCLUSIONES

El modelo estadístico propuesto para el estudio de los perfiles de distribución de sal y agua se ajustó adecuadamente a los valores experimentales. Es posible que se requiera la utilización de un modelo más complejo o mayor cantidad de datos para el primer tiempo de maduración estudiado (5 hs) ya que se encontraron los menores valores de ajuste del modelo.

Con respecto a la distribución de agua se encontró para el primer tiempo estudiado (5 hs) una mayor concentración de agua en la zona media del queso y comparando la cara superior con la inferior, mayor concentración de agua la zona inferior, lo que está relacionado con el efecto gravitacional del desuerado y menor concentración de humedad en la cara superior debido a la deshidratación osmótica producida por una alta concentración de sal en la superficie. Para minimizar este efecto se propone aumentar el número de volteo durante estas 5 primeras horas. Desde el día posterior a la elaboración hasta la semana de maduración se mantiene el perfil de eliminación de agua con una mayor concentración de humedad en las zonas externas. A partir de este tiempo y hasta el último tiempo estudiado (28 días) se invierte el perfil, mostrando los quesos un perfil de deshidratación.

A su vez, para el perfil de sal se obtuvieron para el primer tiempo estudiado una baja concentración general de NaCl en los quesos debido posiblemente a que la mayor cantidad de sal



ha sido eliminada con el descarte de la corteza en el muestreo ya que recién comenzaba a solubilizarse en el agua del queso. Encontrándose una mayor concentración de sal en la cara superior que en la inferior debido a la dilución de NaCl en la zona inferior de acuerdo con el perfil de humedad encontrado. A partir del día posterior a la elaboración y hasta el tiempo 5 (2 semanas de maduración) los perfiles de NaCl se definen obteniéndose una distribución circular con la menor concentración próxima al centro geométrico de los quesos. A partir de este tiempo deja de ser significativo el factor altura lo que está relacionado con la disminución del efecto gravitacional sobre la distribución de agua, ya que a partir de este tiempo deja de producirse el perfil de desuerado y pasa a producirse un perfil de secado. La distribución horizontal del NaCl sigue produciéndose hasta el final del período de maduración estudiado, lo que podría favorecerse si ubicáramos los quesos también de forma vertical en la cámara de maduración.

El salado seco superficial no presentó diferencias significativas (bloques $p > 0,05$) entre los distintos quesos muestreados, lo que permite concluir que las propiedades físico químicas de la leche y por lo tanto, las características fisicoquímicas finales de los quesos, no influyen en la distribución del NaCl y del agua, teniendo en cuenta que las diferencias encontradas en composición fueron mínimas para los quesos ensayados en Marzo y Noviembre.

El conocimiento sobre las velocidades de variación de humedad y sal en el queso es útil para la predicción de los cambios en la masa de los mismos durante el almacenamiento bajo un conjunto particular de condiciones. Debido a que existen gradientes de sal y agua dentro del queso para la duración de almacenamiento comercial normal, se pueden esperar variaciones en la actividad bacteriana y enzimática.

En lo que respecta a la distribución de sal y agua para este tipo de salado, se podría recomendar 2 semanas en cámara de maduración a 10°C y 95% de humedad relativa como un tiempo de maduración adecuado que permitiría obtener en el queso un equilibrio de concentraciones, aceptable.

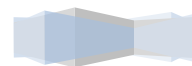
III.6. BIBLIOGRAFIA

Andrés, A.; Panizzolo, L.; Camacho, M. M.; Chiralt, A.; Fito, P. (1997). Distribution of salt in Manchego type cheese after brining. En: Jowitt, R. (Ed). Engineering & Food at ICEF. Academic Press, Sheffield, 133–166.

Buffa, M.; Guamis, B.; Saldo, J.; Trujillo, A. J. (2003). Changes in water binding during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goat milk. *Le Lait*, 83(1): 89-96.

Castell-Palou, A.; Váquiro, H. A.; Cárcel, J. A.; Rosselló, C.; Femenia, A.; Simal, S. (2012). Mathematical modeling of moisture distribution and kinetics in cheese drying. *Drying Technology*, 30(11-12): 1247-1255.

Chamba, J. F. (1982). Le salage de l'Emmental. PhD Thesis, Université de Lorraine, France.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Chávez Cury, G. (2006). Revisión experimental del intervalo de pH para la determinación de cloruros por el método de Mohr. *Revista Boliviana de Química*, 23: 24-26.

Código Alimentario Argentino. (2014). Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf. Último acceso: 19/04/15.

De Piante, D.; Castelao, E.; Rubiolo de Reinick, A. (1990). Diffusion coefficient of salt in salting and ripening soft cheese. En: Spiess, W. E. L.; Schubert, H. (Eds). *Engineering and food*, Vol. 1. Physical properties and process control. Elsevier Science Publishers, New York, 493-502.

Escrache, I.; Fuentes, C.; González, C.; Chiralt, A. (1999). Aroma development in Manchego type cheese as affected by salt content and salting method. *Journal of Chromatography and Analysis*, 13: 827-836.

Floury, J.; Rouaud, O; Le Poullennec, M.; Famelarta, M.H. (2009). Reducing salt level in food: Part 2. Modelling salt diffusion in model cheese systems with regards to their composition. *LWT- Food Science and Technology*, 42: 1621-1628.

Fox, P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg.

Geurts, T. J.; Walstra, P.; Mulder, H. (1974). Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 28: 102-129.

Geurts, T. J.; Walstra, P.; Mulder, H. (1980). Transport of salt and water during salting of cheese. 2. Quantities of salt taken up and of moisture lost. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 34: 229-254.

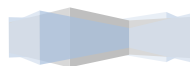
Gombau, J. B.; Chiralt, A. (1994). Evolución de perfiles de humedad y actividad de agua durante la maduración de queso Manchego. En: Fito, P.; Mulet, A.; Hernández E.; Vidal, D. (Eds). *Anales de Investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos*, Vol. 3. Universidad Politécnica de Valencia, España.

Gonzalez-Martínez, C.; Chafer, M.; Fito, P.; Chiralt, A. (2002). Development of salt profiles on Manchego type cheese during brining. Influence of vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, 53: 67-73.

Guamis, B.; Trujillo, A. J.; Ferragut, V.; Chiralt, A.; Andres A.; Fito P. (1997). Ripening control of Manchego type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 7: 185-192.

Guinee, T. P. (1985). Studies on the movements of sodium chloride and water in cheese and the effects thereof on cheese ripening. Ph.D. thesis. National University of Ireland.

Guinee, T. P.; Fox, P.F. (1983). Changes in Sodium Chloride and Moisture Levels in Romano-Type Cheese during Ripening. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 7: 119-128.



Guinee, T. P., & Fox, P. F. (1983b). Sodium chloride and moisture changes in Romano-type cheese during salting. *Journal of Dairy Research*, 50(04), 511-518.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1986). Influence of cheese geometry on the movement of Sodium Chloride and water during ripening. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 10: 97-118.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1986b). Influence of cheese geometry on the movement of sodium chloride and water during brining. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 10: 73-96.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (2004). Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. *In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Springer US, pp 257-302.

Hardy, J. (1983). Diffusion et distribution du chlorure de sodium dans les fromages. Influence sur l'activité de l'eau et les propriétés de sorption de l'eau. Thèse d'Etat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France.

Hardy, J. (1985). Diffusion du chlorure de sodium et activité de l'eau des fromages. *Science des Aliments*, 5: 153-162.

Kindstedt, P.S. (2007). Low-moisture Mozzarella cheese. *In: McSweeney, P.L.H. (Ed.), Cheese Problems Solved*. CRC Press, pp. 299–329.

Lopez, C.; Camier, B.; Gassi, J.Y. (2007). Development of the milk fat microstructure during manufacture and ripening of Emmental cheese observed by confocal laser scanning microscopy. *International Dairy Journal*, 17: 235–247.

Lu, Y.; McMahon, D. J. (2015). Effects of sodium chloride salting and substitution with potassium chloride on whey expulsion of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 98(1): 78-88.

Luna, J. A.; Bressan, J. A. (1987). Mass transfer during ripening of Cuartirolo argentino cheese. *Journal of Food Science*, 52(2): 308-311.

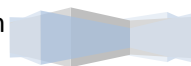
Luna, J. A.; Chavez, M. S. (1992). Mathematical model for water diffusion during brining of hard and semi-hard cheese. *Journal of Food Science*, 57(1): 55-58.

Luo, J.; Pan, T.; Guo, H. Y.; Ren, F. Z. (2013). Effect of calcium in brine on salt diffusion and water distribution of Mozzarella cheese during brining. *Journal of dairy science*, 96(2): 824-831.

Maubecín, R. A. (1983). Proyecto para el mejoramiento de la producción caprina en las regiones de cuyo, centro y noroeste argentino. Reunión Nacional de Producción caprina. IDIA Suplemento 39: 45-51.

McMahon, D.J.; Motawee, M.M.; McManus, W.R. (2009). Influence of brine concentration and temperature on composition, microstructure, and yield of feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 92: 4169–4179.

Messens, W.; Dewettinck, K.; Huyghebaert, A. (1999). Transport of sodium chloride and water in Gouda cheese as affected by high-pressure brining. *International Dairy Journal*, 9: 569-576.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Miceli, E.; Castagnasso, H.; Lara, J.; López, M.; Lacchini, R. (2007). V Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.

Morris, H. A.; Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1985). Salt diffusion in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 68: 1851-1858.

Pajonk, A.S.; Saurel, R.; Andrieu, J. (2003). Experimental study and modeling of effective NaCl diffusion coefficients values during Emmental cheese brining. *Journal of Food Engineering*, 60: 307–313.

Pavia, M.; Guamis, B.; Trujillo, A. J.; Capellas, M.; Ferragut, V. (1999). Changes in micro structural, textural and color characteristics during ripening of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 9(2): 91-98.

Pavia M.; Trujillo, A. J.; Sendra E.; Guamis B.; Ferragut V. (2000). Free fatty acid content of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 10: 563-568.

Pierre, A.; Michel, F.; Le Gräet, Y.; Berrier, J. (1999). Soft goat cheese at different ripening stages: Cheese structure, composition and nonsolvent water. *Lait*, 79: 489-501.

Piskunov, N. (1977). *Cálculo diferencial e integral*. Tomo II. Tercera Edición. Editorial MIR, Moscú.

Prasad, N.; Alvarez, V.B. (1999). Effect of salt and chymosin on the physico-chemical properties of feta cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 82: 1061– 1067.

Sanchez, E. S.; Simal, S.; Femenia, A.; Benedito, J.; Rossello, C. (1999). Influence of ultrasound on mass transport during cheese brining. *European Food Research and Technology*, 209: 215-219.

Sánchez, E. S.; Simal, S.; Femenia, A.; Rosselló, C. (2000). Effect of acoustic brining on the transport of sodium chloride and water in Mahon cheese. *European Food Research and Technology*, 212(1): 39-43.

Santapaola, J.; Andrés, A.; Maldonado, S.; Fernández, M. (2012). Application of the response surface analysis method to the study of salt and water profiles in goat's cheese salted in layers. *Journal of Food Process Engineering*, 35(3): 355-369.

Simal, S.; Sánchez, E.S.; Bon, J.; Femenia, A.; Rosselló, C. (2001). Water and salt diffusion during cheese ripening: effect of the external and internal resistances to mass transfer. *Journal of Food Engineering*, 48: 269–275.

Tabla, R.; Gómez, A.; Rebollo, J.E.; Roa, I. (2015). Salt influence on surface microorganisms and ripening of soft ewe cheese. *Journal of Dairy Research*. Page 1-7, doi:10.1017/S0022029915000023

Todaro, M.; Francesca, N.; Reale, S.; Moschetti, G.; Vitale, F.; Settanni, L. (2011). Effect of different salting technologies on the chemical and microbiological characteristics of PDO Pecorino Siciliano cheese. *European Food Research and Technology*, 233(6): 931-940.



III. APLICACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE SUPERFICIE DE RESPUESTA AL ESTUDIO DE PERFILES DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO SECO SUPERFICIAL DURANTE LA MADURACIÓN

Turhan, M. (1996). Modeling of salt transfer in white cheese during short initial brining. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 50: 541-550.

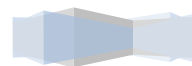
Turhan, M.; Kaletunç, G. (1992). Modeling of salt diffusion in white cheese during long-term brining. *Journal of Food Science*, 57(5): 1082-1085.

Vandenbergh, E.; Choucharina, S.; Luca, S.; De Ketelaere, B.; De Baerdemaeker, J.; Claes, J. (2014). Spatio-temporal gradients of dry matter content and fundamental material parameters of Gouda cheese. *Journal of Food Engineering*, 142, 31-38.

Velázquez-Varela, J.; Fito, P. J.; Castro-Giráldez, M. (2014). Thermodynamic analysis of salting cheese process. *Journal of Food Engineering*, 130: 36-44.

Zhu, X.; Zhao, L.; Liu, S.; Huang, W.; Zhao, S. (2011). Experimental Study and Modeling NaCl Mass Transfer during Feta Cheese Ripening. *International Journal of Food Engineering*, 7(4).

Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (1994). Modeling NaCl and KCl movement in Fynbo cheese during salting. *Journal of Food Science*, 59(5): 976-980.



IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN
QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y
SU EVOLUCIÓN DURANTE LA
MADURACIÓN

IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

IV.1. RESUMEN

Se determinaron los cambios en la concentración de NaCl y agua en quesos de cabra salados por distribución de 2% de sal seca en chips de cuajada y posteriormente moldeados y madurados en cámara a 10°C y 90% de humedad relativa durante 4 semanas. Se encontró que la concentración de NaCl global aumenta con el tiempo de maduración, produciéndose cambios significativos a los 4 días, 2, 3 y 4 semanas de maduración. Esta variación se relacionó con la pérdida de agua producida en la masa del queso debido al proceso de deshidratación. El coeficiente de variación global disminuyó con el tiempo de maduración, al igual que el coeficiente de variación dentro de cada rodaja, obteniéndose a los 28 días de maduración un CV de 6,78%. Con respecto a la distribución de agua, el coeficiente de variación global aumentó con el tiempo de maduración, esto está relacionado con que aumentó la variación local de la concentración de agua debido al fenómeno de deshidratación producido en los quesos madurados; este fenómeno de deshidratación se observó también en la concentración global de agua ya que disminuyó significativamente con el tiempo de maduración. A partir de los 21 días, comenzó a presentarse diferencias significativas en la concentración de agua entre las dos rodajas externas y las dos rodajas centrales. Estas diferencias se mantuvieron hasta el último tiempo de maduración estudiado, mostrando que la transferencia de masa entre el queso y el aire de la cámara es la que gobierna el proceso de difusión. En este tipo de salado los gradientes de concentración de agua y sal no tienen un perfil de dirección homogéneo ya que depende de las concentraciones locales de cada porción dentro de la masa del queso. Esto beneficia el secado superficial del queso ya que los gradientes de concentración de NaCl no favorecen la difusión de agua hacia el exterior. Por lo que el film de envasado se convierte en una importante variable tecnológica a tener en cuenta para este tipo de salado, ya que regula la transferencia de agua entre el queso y el ambiente durante la maduración.

IV.2. INTRODUCCIÓN

La venta de quesos posiciona a la Argentina, como un país preferentemente consumidor de quesos de vaca. Sin embargo, en los últimos años, en un contexto de búsqueda de alternativas productivas, ha cobrado particular interés el desarrollo de emprendimientos caprinos para la elaboración de quesos artesanales.

Dependiendo de la variedad de queso, el salado puede llevarse a cabo por inmersión de queso moldeado en una solución de salmuera, por aplicación superficial de sal seca en cuajadas moldeadas o de modo directo, agregando y mezclando sal seca con trozos de cuajada molidas (Guinee y Fox, 2004). El método y las condiciones del salado influyen la difusión tanto de sal como de agua y por lo tanto el contenido de sal y de humedad en el queso (Giroux et al., 2014).



El queso de cabra tradicional de Jujuy es un queso semiduro, salado en seco y fabricado en pequeñas empresas familiares generalmente para auto consumo y con fines comerciales de subsistencia, elaborados principalmente con leche de cabra obtenida en los meses de verano, entre Noviembre y Marzo.

Uno de los propósitos del agregado de sal a los quesos es el control de la microbiota autóctona, particularmente patógenos. Sin embargo la cantidad de sal tiene una influencia importante en la producción de ácido y en la actividad enzimática (Tarakci et al., 2004). En general los quesos elaborados en estas comunidades agrícolas o familias campesinas no pasterizan la leche por lo que agregan mucha cantidad de sal para controlar la calidad higiénico-sanitaria. La pasterización de la leche es ampliamente recomendada para eliminar las bacterias patógenas y evitar el uso excesivo de sal. En nuestro grupo de investigación se trabaja también sobre la educación a estos productores promocionando, entre otros temas, el uso de la pasterización.

Existen pocas publicaciones sobre quesos tradicionales de diferentes localidades del mundo, que generalmente se salan por agregado directo de sal. Algunos son: queso Herby de Turquía (Tarakci et al., 2004), Galotyri de Grecia (Kondyli et al., 2008), Ras de Egipto (El-Ella et al., 1988), queso de cabra de Argentina (Santapaola et al., 2012). Por otro lado, existe mucha bibliografía para una variedad de queso que utiliza este salado y es más difundida en el mundo: el queso Cheddar. Varios autores realizaron estudios sobre la concentración de sal en queso Cheddar y su influencia sobre distintos factores (Agarwal et al., 2011; Biswas et al., 2014; Grummer et al., 2012; Mc Mahon et al., 2014; Møller et al., 2012; Lu y Mc Mahon, 2015). Solamente se han encontrado trabajos relativos a estudios relacionados a la distribución de sal y agua para este queso y, aunque mucho más antiguos, estos trabajos han sido pioneros y muy reconocidos en esta temática (Breene et al., 1965; Fox, 1974; Gilles, 1976; Hoecker y Hammer, 1944; McDowall y Whelan, 1932; Morris, 1961; Morris et al., 1985; Sutherland, 1974, 1977).

Existe una tendencia hacia la adición directa de sal al queso, lo que además implica una tendencia a sustituir el salado por inmersión en salmuera. Esto es principalmente el resultado de regulaciones más estrictas, relativas a la eliminación de las salmueras y a raíz del costo de mantenimiento de las mismas tanto química como microbiológicamente (Johnson y Law, 2010).

El salado de la cuajada es un paso importante en la elaboración de casi todas las variedades de queso. El agregado de sal tiene muchas funciones importantes en los quesos: contribuye directamente al sabor, controla el crecimiento de las bacterias del starter y otras bacterias, regula la actividad de la quimosina y otras enzimas y promueve la sinéresis de la cuajada (Morris et al., 1985). Además de estas funciones la sal, junto con el pH y el nivel de calcio, tiene efecto sobre el grado de hidratación y/o agregación de la paracaseína, que a su vez afecta la capacidad de unión del agua a la matriz de caseína, su tendencia a la sinéresis, sus características reológicas y de textura (Guinee, 2007). A bajas concentraciones de sal existe un efecto salting-in y un efecto salting-out a altas concentraciones. A bajas concentraciones de sal en agua (~ 0,5%) la paracaseína aumenta su capacidad para retener agua mientras que a altas concentraciones de S/M la capacidad de retención disminuye, causando deshidratación y contracción de la matriz proteica de la cuajada (Paulson et al., 1998; Guinee and Fox, 2004; McMahan et al., 2005).

A pesar de que la concentración y la distribución de sal juegan un papel importante en los aspectos antes mencionados, hay un conocimiento limitado acerca de los principios de la ingeniería en el fenómeno de salado del queso, relacionados con la transferencia de masa (Vélez-Ruiz, 2011).

En teoría, el nivel NaCl en quesos salados en masa se consigue mediante el ajuste de la proporción de sal agregada por peso de cuajada. En la práctica, muchos factores hacen difícil el control de la concentración industrial óptima de NaCl, incluyendo la uniformidad de su aplicación, la temperatura, el pH, la humedad, las dimensiones de los gránulos de cuajada previo al moldeo, el tiempo de agitación y el transcurrido entre el salado y prensado así como el proceso de difusión para obtener el equilibrio entre las regiones de concentración desigual de sal, durante el proceso de maduración (Kindstedt y Kosikowski, 1988).

Por lo expuesto se plantea como objetivo de este capítulo estudiar la distribución de sal y agua en quesos de cabra salados por distribución y mezcla de sal con gránulos de cuajada durante un período de maduración de 28 días.

IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.3.1. Toma de Muestra y Análisis de la Materia Prima

La leche se obtuvo directamente del tambo de un productor de la localidad de Monterrico, provincia de Jujuy y se trasladó al Laboratorio de Ingeniería para el Desarrollo de la Agroindustria Regional (IDEAR) de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy en recipientes de 10 litros de capacidad. Se sometió a ensayo inmediatamente. Se homogeneizó la leche por agitación mecánica durante 30 segundos, aproximadamente. La toma de muestra para los ensayos se efectuó sobre el volumen total de leche homogeneizada, extrayendo una porción volumétrica representativa.

En la leche cruda se analizó:

- Acidez, por el Método AOAC, 16th ed. Nº 33.2.06. Titulación con NaOH 0,1N con fenolftaleína en alcohol como indicador. El resultado se expresó en % (p/p) de ácido láctico (1 ml 0,1 N NaOH = 0,0090 g ácido láctico).
- pH, utilizando un medidor Marca Hanna, Modelo HI8424.
- Densidad, con un lactodensímetro marca FITE S. A. y la corrección de temperatura se llevó a cabo empleando una tabla de corrección provista por el fabricante.



IV.3.2. Elaboración del Fermento Natural de Leche

Se colocaron 500 ml de leche cruda en un vaso de precipitado y se termizó a 65°C. Posteriormente se enfrió hasta 45°C y se incubó durante 24 hs alcanzando una acidez de 150°D y un pH de 4,3-4,4. El fermento obtenido se almacenó en refrigeración a 4°C.

Al momento de elaborar el queso, de las dos fases formadas se desechó el sobrenadante y el suero se utilizó para sembrar la leche.

IV.3.3. Elaboración del Queso

Se partió de 40 litros de leche de cabra obtenida en el mes de Marzo. Se efectuó un filtrado rápido de la leche y luego se realizó una pasteurización baja a 60°C por 30 minutos. Se enfrió luego a 40°C y se agregó el cultivo lácteo (1% (v/v)). Se dejó actuar el cultivo hasta que el pH descendió una décima de unidad, aproximadamente 15 minutos y seguidamente se incorporó el cuajo Marca Chr. Hansen, Producto CHYMAX, 100% quimosina, con una fuerza coagulante IMCU 77,93000 (40 ml/100lt). Se dejó actuar hasta obtener el punto de lirado, aproximadamente por 30 minutos. Se realizó el cortado de la cuajada en cubos de 1 cm de lado, con posterior mezclado y agitación suave, evitando que los granos de cuajada se rompieran, para favorecer el desuerado. La cuajada se separó del suero en la mesa de desuerado.

IV.3.4. Tratamiento de salado

Una vez drenado el suero en la mesa de desuerado se cortó la cuajada en pequeños cubos de aproximadamente 1 cm³. El salado se realizó por adición de 2% de NaCl (sal fina común), o sea 2 gr de sal por cada 100 gr de cuajada y posterior mezcla manual. A continuación se colocó la cuajada salada en moldes plásticos circulares de 5 cm de alto y 10 cm de diámetro, con perforaciones. Seguidamente los quesos se almacenaron en cámara de maduración a (10±1)°C y (90 ± 5)% de humedad relativa y se voltearon cada 60 minutos durante las primeras 5 horas. Luego se voltearon una vez por día hasta el final del período de maduración estudiado. El ensayo se realizó por duplicado.

IV.3.5. Diseño Experimental

Se extrajo un queso de la cámara de maduración en los siguientes tiempos: 5 hs, 1 y 4 días, 1, 2, 3 y 4 semanas. Se registró el peso usando balanza granataria marca Mettler modelo PC 8000.

Cada queso fue fraccionado como se muestra en la Figura IV.1. Para ello se descartó 0,5 cm de la parte superior e inferior de la pieza. Se dividió el resto en 4 rodajas horizontales de 1 cm de espesor (A, B, C y D). En cada rodaja se cortó el cuadrado circunscrito, resultando de 8 cm de lado, el que se dividió en 64 pequeñas piezas de 1 cm x 1 cm. Se realizó un muestreo de bloques completos al azar, tomando cada rodaja como bloque y 6 trozos por rodaja como muestra.

IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

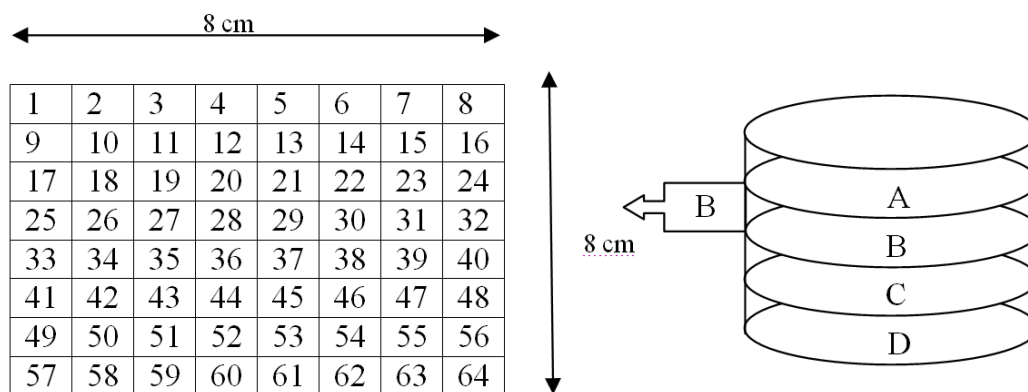


Figura IV.1. Sistema de muestreo

Se seleccionaron las muestras al azar para cada uno de los tiempos estudiados. Por ejemplo, para el primer tiempo (5 horas) las porciones que resultaron elegidas fueron:

Rodaja	Sub-muestras tomadas
A	8 - 24 - 5 - 6 - 56 - 2
B	53 - 11 - 54 - 15 - 64 - 9
C	42 - 11 - 49 - 5 - 61 - 45
D	57 - 51 - 60 - 47 - 30 - 59

Se extrajeron las mismas porciones en el ensayo duplicado.

IV.3.6. Determinaciones analíticas

IV.3.6.1. DETERMINACIÓN DE CLORURO

Se tomaron muestras de aproximadamente 0,5 gramos de queso, se le agregó 25 ml de agua destilada a 80°C y se homogeneizó con Omni-mixer modelo 17106, por 2 minutos. La solución resultante se sometió a la determinación de Cloruros siguiendo el Método de Mohr que consiste en una titulación por precipitación a temperatura ambiente con una disolución valorada de Nitrato de Plata 0,1 N, formando un precipitado blanco poco soluble de Cloruro de Plata y empleando como indicador una disolución de Cromato de Potasio al 5 % m/v. En el punto final los iones cromato reaccionan con los iones plata, formando un precipitado de color rojo anaranjado, escasamente soluble. Se disminuye el error en la titulación si se realiza dentro de un intervalo de pH cercano a la neutralidad, entre 7,0 y 8,0 (Chavez, 2006), por lo que previamente a la titulación con Nitrato de Plata se agregaron 3 gotas de indicador fenolftaleína 1% en alcohol y se tituló con Carbonato de Sodio 0,1N hasta coloración rosada. Los resultados se expresaron como [gr NaCl.(gr NaCl + gr agua)⁻¹].



IV.3.6.2. CONTENIDO DE HUMEDAD

Se determinó gravimétricamente en estufa de vacío a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ y 25 pulgadas de mercurio hasta peso constante. Se expresó como gr agua.(gr materia seca)⁻¹.

IV.3.7. Análisis Estadístico

Los resultados se evaluaron utilizando el software Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.11. Los datos se analizaron mediante un diseño de factor categórico individual con la edad del queso como bloque y las rodajas como factor experimental en 4 niveles. Además se realizó un Análisis de la Varianza tanto para los datos de humedad como para los de NaCl, para el factor tiempo de maduración. Las diferencias significativas se evaluaron por comparación múltiple de medias aplicando el test de Tukey de alta diferencia significativa (95% de confianza).

Se realizó también un análisis de regresión simple para la variación de humedad de cada rodaja en función del tiempo de maduración para ajustar los datos al mejor modelo y se correlacionaron las concentraciones de NaCl y agua para evaluar una posible relación.

IV.4. RESULTADOS Y DISCUSION

IV.4.1. Análisis de las materias primas, rendimientos, pérdidas de peso y composición final de los quesos

La leche presentó una acidez de $(0,144 \pm 0,005)$ % de ácido láctico, un pH inicial de $6,87 \pm 0,01$ y densidad promedio de $(1,032 \pm 0,002)$ g.cm⁻³ valores normales según bibliografía (Fox, 2000). El elevado valor de pH concuerda con la lactancia avanzada de finales de verano. El rendimiento quesero promedio fue $17,4 \pm 0,9$ % (P/V), valor acorde a los encontrados por otros autores para cabras del noroeste argentino (Maldonado et al., 2012; Oliszewski et al., 2002). El rendimiento obtenido fue superior al alcanzado por autores de otras partes del mundo y con quesos elaborados a partir de leche de cabra de razas europeas. Pierre et al. (1998) obtuvo un rendimiento de $15,15\% \pm 0,22$ al día 2 de maduración, mientras que Duquesne et al. (1999) lograron rendimientos en fresco de 9,91% y Cosentino et al. (1999) obtuvieron 11,62 %. El rendimiento quesero para queso de cabra semiduro encontrado por Srbinovska et al. (2001) es del 12,5%. El rendimiento quesero obtenido puede ser un poco más elevado debido al mayor contenido de materia seca de la leche. Esto está relacionado con la alimentación, las razas de las cabras, la ubicación geográfica y las características climáticas (Maldonado et al., 2012).

El contenido inicial promedio de sal en la cuajada fue de $(0,002 \pm 0,001)$ [gr NaCl.(gr NaCl+gr agua)⁻¹], valores acordes con lo encontrado por otros autores (Gombau y Chiralt, 1994) y la humedad de $65,2 \pm 0,4$ %. La cantidad de proteína en las cuajadas fue de $(17,6 \pm 0,4)$ % mientras que la cantidad de grasa fue de 46 ± 1 %. La pérdida de peso promedio de los quesos elaborados fue del $28,8 \pm 0,1$ % al cabo del mes de maduración. Una pérdida de peso elevada si la

comparamos con lo encontrado por Oliszewski et al., 2002 en queso de cabra semiduro quienes reportan una pérdida de peso del 11% a los 20 días de maduración.

La composición final de los quesos puede verse en la Tabla IV.1. Según el Art. 605 del Código Alimentario Argentino (2014), podemos calificar a los quesos finales obtenidos como de mediana humedad (pasta semidura) y grasos.

Tabla IV.1. Composición final de los quesos

Humedad (% p/p)	39 ± 3
Grasa Total (% de ms)	46 ± 3
Proteína Total (% p/p)	31 ± 2
NaCl (% p/p)	2,5 ± 0,1
pH	5,8 ± 0,1

IV.4.2. Distribución de Cloruro de Sodio

Los histogramas de distribución de sal en cada uno de los siete tiempos de muestreo se presentan en la Figura IV.2. El patrón de distribución fue más amplio a las 5 hs y 1 día de maduración. La propagación fue más estrecha entre los 4 días y las 2 semanas de maduración, donde se observó un patrón de distribución normal. Luego, la propagación fue de nuevo amplia para las 3 semanas de maduración y para el último tiempo de maduración estudiado (4 semanas) se volvió a notar una tendencia hacia una distribución normal.

La cantidad de sal agregada a la masa de cuajada fue del 2% (P/P) y la humedad de la cuajada previamente al salado de $1,87 \text{ g agua} \cdot (\text{g ms})^{-1}$ por lo tanto la concentración de sal en el suero del queso resultó de $0,0298 \text{ [g NaCl} \cdot (\text{gr NaCl} + \text{gr agua})^{-1}]$. Para las 5 hs posteriores al ingreso a la cámara de maduración la concentración de sal promedio fue de $0,013 \text{ [g NaCl} \cdot (\text{gr NaCl} + \text{gr agua})^{-1}]$, lo que da una pérdida de sal en el suero del 43,6%. Esto se calculó basado en el total de NaCl en el queso y sin tener en cuenta el NaCl presente de forma natural. La pérdida de NaCl en queso salado en masa generalmente varía con la cantidad de sal agregada. Según Fox et al. (2000) para porcentajes bajos de sal agregada (0,5%) se obtiene 10 a 15% de pérdida de sal en el suero, mientras que para porcentajes altos de sal (2,7%; Sutherland, 1974; Nair et al., 2004) la pérdida es del 50%.

Los valores promedios, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada tiempo y rodaja así como el test de Tukey aplicado para las rodajas en cada tiempo y para la concentración global de NaCl en función del tiempo, se resumen en la Tabla IV.2. Se puede observar que la concentración de NaCl global aumenta con el tiempo de maduración, produciéndose cambios significativos a los 4 días, 2, 3 y 4 semanas de maduración. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por otros autores que estudiaron la variación de la concentración de sal y de agua con el tiempo de maduración de diferentes quesos salados en masa (Tarakci et al., 2004; Sheehan et al., 2009; El-Ella et al., 1988) Esta variación está relacionada con la pérdida de agua producida en la masa del queso debido al proceso de deshidratación (Tabla IV.3). En otros tipos de salado (salado en salmuera o por distribución de sal seca sobre la superficie) el aumento de sal en los



quesos se debe al ingreso de NaCl y a la pérdida de agua que se produce para restablecer el equilibrio termodinámico del sistema.

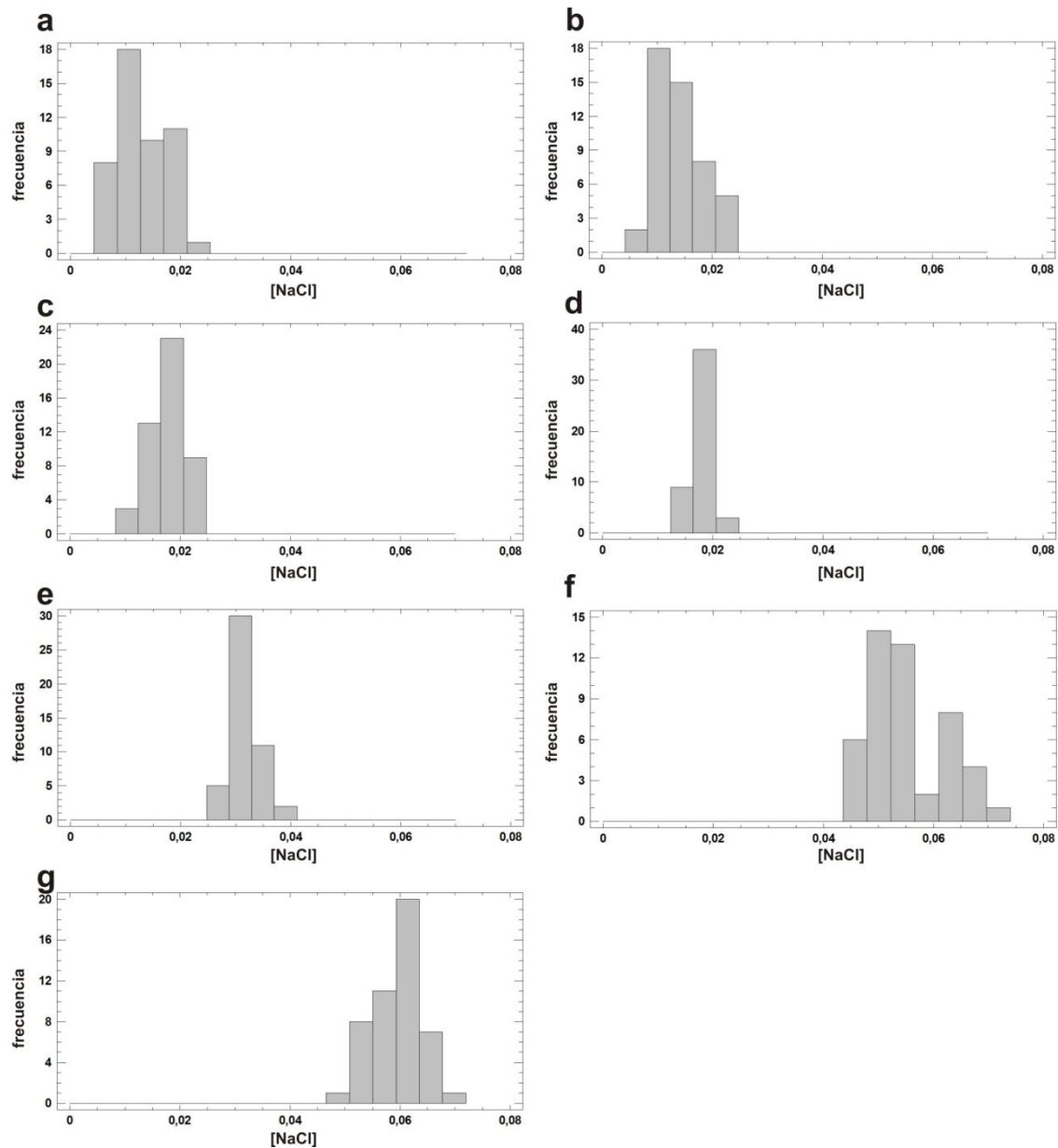


Figura IV.2. Histogramas de la concentración de sal $[\text{gr NaCl} \cdot (\text{gr NaCl} + \text{gr agua})^{-1}]$ en 48 puntos de muestreo en queso de cabra de aproximadamente 500 gr durante 4 semanas de maduración. **a.** 5hs. **b.** 24 hs. **c.** 4 días. **d.** 1 semana. **e.** 2 semanas. **f.** 3 semanas. **g.** 4 semanas.

El coeficiente de variación global disminuye con el tiempo de maduración, produciéndose un aumento a los 21 días de maduración en dónde se empiezan a encontrar variaciones entre las rodajas, siendo las rodajas en contacto con el aire exterior (A y D) las de mayor concentración debido al secado superficial de los quesos. Morris et al. (1985) estudiaron la difusión de sal en queso Cheddar envasado en Cryovac, no encontrando un aumento en la concentración de sal a medida que avanzaba el tiempo de maduración, dada la mínima pérdida de humedad debida al envase.

IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

Tabla IV.2. Resultado del análisis estadístico de comparación de varias muestras para el factor Rodajas. Aplicación del Test de Tukey HSD para la comparación de las medias en cada tiempo.

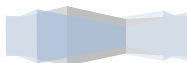
Rodajas	5 horas		24 horas		4 días		7 días		14 días		21 días		28 días	
	Promedio * (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)
A	0,010 ^A (0,004)	40,00	0,013 ^A (0,004)	30,77	0,015 ^A (0,003)	20,00	0,017 ^A (0,002)	11,76	0,032 ^A (0,003)	9,37	0,056 ^A (0,005)	8,93	0,060 ^A (0,003)	5,00
B	0,012 ^A (0,002)	16,67	0,012 ^A (0,002)	16,67	0,017 ^B (0,003)	17,65	0,018 ^A (0,002)	11,11	0,031 ^A (0,003)	9,68	0,050 ^B (0,004)	8,00	0,054 ^B (0,003)	5,56
C	0,011 ^A (0,002)	18,18	0,013 ^A (0,003)	23,08	0,019 ^B (0,003)	15,79	0,018 ^A (0,001)	5,56	0,030 ^A (0,002)	6,67	0,051 ^B (0,003)	5,88	0,061 ^A (0,002)	3,28
D	0,017 ^B (0,004)	23,53	0,018 ^B (0,004)	22,22	0,019 ^B (0,002)	10,53	0,019 ^A (0,002)	10,53	0,031 ^A (0,003)	9,68	0,064 ^C (0,005)	7,81	0,063 ^A (0,003)	4,76
TOTAL	0,013^a (0,004)	30,77	0,014^a (0,004)	28,57	0,017^b (0,003)	17,65	0,018^b (0,002)	11,11	0,031^c (0,003)	9,68	0,055^d (0,007)	12,73	0,059^e (0,004)	6,78

* Concentración de sal en [g NaCl.(g NaCl + g agua)⁻¹];

^{A, B, C} Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (95% de confianza);

^{a, b, c, d, e} Letras diferentes en la fila de Total indican diferencia estadísticamente significativa (95% de confianza);

DE (desviación estándar); CV (coeficiente de variación)



Si analizamos la variación del coeficiente de variación dentro de cada rodaja a lo largo del período de maduración vemos que disminuye en todos los casos. A las 5 hs de maduración podemos observar que la rodaja superior (A) es la que tiene el mayor coeficiente de variación y a su vez la menor concentración promedio de sal. La rodaja Inferior (D) es la que presenta mayor concentración de sal. Es probable que este fenómeno se deba al efecto gravitacional de la eliminación de suero en estos tipos de quesos pocos prensados, donde la sal disuelta en la fase acuosa del queso tiende a salir por la parte inferior a pesar del volteo cada media hora realizado en esta primera etapa de maduración estudiada. Resultados similares fueron encontrados en trabajos previos para el salado en capa (Santapaola et al., 2012), donde la sal se distribuye entre capas de cuajada durante el moldeo. En cambio, cuando estudiamos el salado seco superficial (capítulo III) se encontraron resultados diferentes ya que el suero del queso que tiende a salir por la parte inferior "lava" la cara superficial inferior de los quesos y produce una disminución de la concentración en la capa inferior con respecto a la capa superior. Esta diferencia de concentración de la rodaja inferior con respecto a las otras rodajas se mantiene hasta las 24 hs de salado.

Morris et al. (1985) diseñaron un conjunto de experimentos para establecer cuán localizada era la variación de sal. Se analizó el contenido de sal de seis cubos circundantes a un cubo especial. Los resultados mostraron que el contenido de sal variaba considerablemente, incluso entre distancias bastante pequeñas. También realizaron el experimento dentro de un mismo cubo (30g) que se cortó longitudinalmente por la mitad, cada mitad fue cortada en ocho pequeños cubos y la variación de sal encontrada fue significativa, especialmente en los quesos jóvenes (1 día de maduración).

A los 4 días de maduración, no se encontraron diferencias significativas entre las rodajas B, C y D y la rodaja superior (A) resultó estadísticamente diferente, con la concentración más baja y el coeficiente de variación más alto.

Para los 7 y los 14 días de maduración no se detectaron diferencias estadísticamente significativas para la concentración de sal entre las diferentes rodajas y el coeficiente de variación global encontrado fue del 9,68% para las 2 semanas de maduración. Sheehan et al. (2009) en cambio, encontraron que la concentración de sal era mayor en las secciones centrales que en las secciones externas hasta los 14 días de maduración en bloques de 12 kg de queso Cheddar, lo que demuestra que el tamaño de los quesos influye en la rapidez con la que se alcanza el equilibrio de concentración de sal.

A los 21 días de maduración existe un aumento del coeficiente de variación global, aunque los coeficientes de variación de cada una de las rodajas disminuyen. Esto es debido a que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las rodajas superior e inferior (A y D, respectivamente) y entre éstas y las rodajas centrales (B y C). Las rodajas externas presentan una concentración mayor de sal que las rodajas internas del queso, esto probablemente se pueda explicar por la disminución de agua de las caras externas del queso debido al proceso de deshidratación ocurrido en la cámara.

En el último tiempo de maduración estudiado se observa que el sistema tiende de nuevo al equilibrio, ya que las concentraciones dentro de cada rodaja, analizadas a través del coeficiente de variación tienden a igualarse (disminuye el CV) y las diferencias entre rodajas, analizadas por test de Tukey, también se igualan, salvo para la rodaja B, que mantiene la concentración más baja y el mayor coeficiente de variación.



IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

En la figura IV.3 se puede observar la variación de la concentración media de NaCl para cada rodaja y tiempo estudiado.

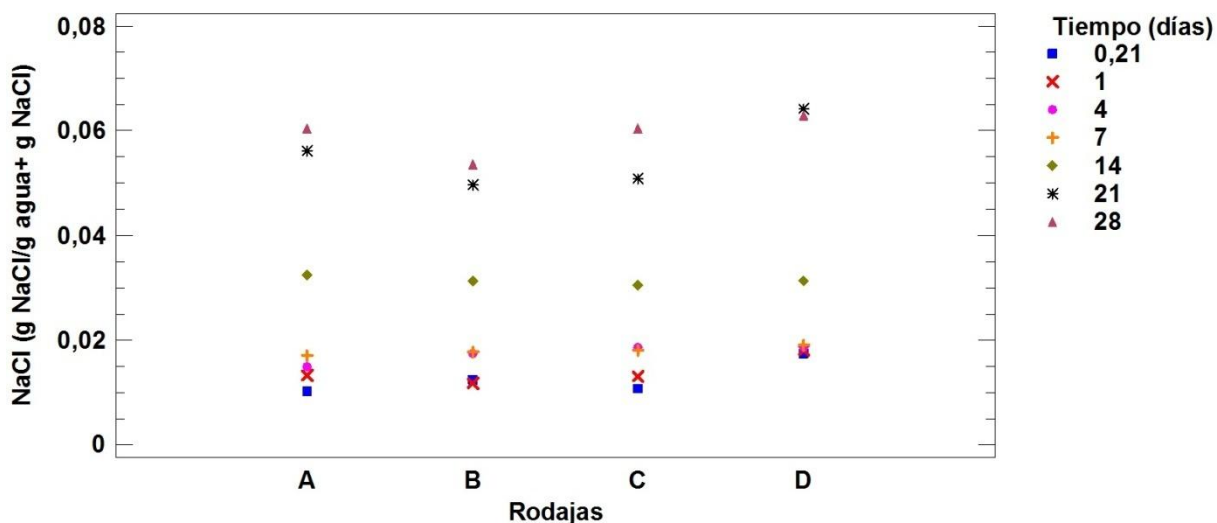


Figura IV.3. Concentración promedio de NaCl para cada rodaja y tiempo de maduración estudiado.

Se puede ver que a los 14 días hay un aumento significativo de la concentración de NaCl en todas las rodajas de queso. En este tipo de salado, la cantidad de sal a difundir está limitada a la agregada antes del moldeo por lo que el aumento de NaCl sólo puede ser debido a la pérdida de humedad de la masa de queso. La distribución uniforme o no, de esta cantidad de sal puede ser seguida mediante la observación del coeficiente de variación. El mismo disminuye durante todo el proceso de maduración estudiado dentro de cada rodaja (Tabla IV.2) pero el fenómeno de secado que se produce durante la maduración de quesos no envasados produce una pérdida de agua superficial que aumenta la concentración de NaCl para las porciones externas a partir de los 21 días y una nueva y diferente fuerza impulsora se genera para lograr el equilibrio termodinámico de la sal y el agua. Por lo que, para los 21 días existe una diferencia estadísticamente significativa entre las rodajas exteriores y las centrales que disminuyen con el tiempo de maduración ya que para el último tiempo estudiado, las diferencias significativas solamente se mantienen para una rodaja (B). Es probable que si la deshidratación superficial sigue dominando el fenómeno de transferencia de masa, el equilibrio sea difícil de alcanzar ya que nuevos gradientes se estarán formando durante todo el tiempo. Este fenómeno podría subsanarse si se envasaran los quesos a partir de las 2 ó 3 semanas.

Morris et al. (1985) cuando estudiaron la difusión de sal en bloques de 20 kg de queso Cheddar, encontraron que la concentración de sal no alcanzó el equilibrio después de 24 semanas de maduración. Pero cuando estudiaron la difusión en quesos modelos, por ejemplo en chips de quesos Cheddar salado mediante la adición de 3% de sal y mezclados ocasionalmente durante el tiempo de salado (45 minutos) y analizaron la concentración de NaCl en distintas capas obtenidas de los chips, encontraron que a las 48 hs se había establecido el equilibrio dentro de los chips. También analizaron la difusión entre rodajas de cuajada de queso Cheddar salados y sin salar colocados alternadamente y puestos en una lata de aluminio y encontraron que el equilibrio en el queso dentro de la lata se alcanzaba a los 26 días. Los anteriores experimentos indican que aunque si bien el equilibrio de sal en el queso Cheddar se alcance muy lentamente, el NaCl difunde rápidamente entre trozos de cuajada. Parecería que la presencia de muchas fronteras sin dirección consistente, tal como existe entre los



chips de cuajada molida en un bloque de queso Cheddar, puede reducir la tasa de difusión. Estos resultados en queso Cheddar parecen coincidir con los encontrados en este trabajo respecto a queso de cabra, ya que los coeficientes de variación disminuyen en forma lenta hasta las 2 semanas, crecen a las 3 semanas cuando se acentúa el secado superficial por lo que aumenta la concentración de sal en las rodajas exteriores y a partir de ese momento, con gradientes de concentración marcados entre las rodajas exteriores y las centrales el coeficiente de variación disminuye un 50%, lo que resulta, para los 28 días de maduración, en un coeficiente de variación de aproximadamente 7 %, menor a los encontrados para quesos salados en salmuera o incorporación superficial de sal o salado seco, para el mismo tiempo de maduración (ver capítulo III). Morris et al. (1985) trabajaron con quesos envasados en Cryovac y almacenados a 8°C, por lo que seguramente los quesos no sufrieron una deshidratación superficial tan marcada como los quesos de cabra estudiados. En este caso, la deshidratación superficial favoreció el proceso de difusión del NaCl y el equilibrio de sal en los mismos, ya que la difusión de la sal está vinculada a los cambios en el contenido de agua del queso (Payne y Morison, 1999).

En efecto, en el salado en masa existe un gradiente continuo de sal sólo dentro de cada chip de cuajada individual y cada uno de ellos se comporta como una unidad independiente con respecto a la difusión de NaCl desde la superficie hacia el centro de cada uno. Por lo tanto después de que el equilibrio de NaCl se ha establecido dentro de cada chip de cuajada hay un gradiente neto discontinuo a lo largo del queso, estos gradientes dispares son insuficientes para establecer el equilibrio de sal. Además, el NaCl solubiliza parcialmente la proteína en la superficie de los chips de cuajada, que define claramente los límites de los chips individuales y posiblemente altera la difusión en la cuajada (Morris et al., 1985). Aunque, como la relación sal/área superficial es usualmente baja para cada chip y el tiempo en contacto entre la superficie de la cuajada y la capa superficial de salmuera concentrada, generada a partir de la disolución de la sal sólida en la fase acuosa del queso, es relativamente corto, pequeñas y localizadas contracciones proteicas superficiales ocurren comparado con el salado seco superficial (Guinee, 2004). Otro factor que puede inhibir el movimiento de sal y agua es la aparición de micro espacios entre los chips de cuajada molida que rompen la continuidad de los canales de suero (en donde está disuelto el NaCl) en la microestructura del gel de paracaseína (Guinee, 2004). Estos microespacios pueden generarse debido que el alto contenido de sal de la superficie de las partículas de cuajada molida reduce la tendencia de las partículas a fusionarse. En efecto, una pobre fusión de la cuajada se produce como consecuencia de los cambios irreversibles en la proteína de la superficie como resultado de la alta concentración de sal, un mal contacto entre las superficies endurecidas provoca la separación física por la presencia de cristales de sal y, cuando éstos han desaparecido, debido al crecimiento de los cristales de ortofosfato de calcio. La fusión de las partículas se mejora por un aumento en el pH, la temperatura o el contenido de humedad de la cuajada (Lawrence et al., 2004).

Debido a la importancia del nivel de sal y la distribución de la misma en la calidad del queso, la operación de salado a nivel de fábrica es una operación cuidadosamente controlada. Las grandes variaciones en el contenido de sal producidas entre porciones dentro de un mismo queso sugieren que si la distribución de sal no es uniforme inicialmente, no se alcanza el equilibrio durante el período normal de maduración de ese queso (Lawrence et al., 2004). En la práctica comercial de salado en masa, por ejemplo para quesos tipo cheddar, ha sido difícil lograr la uniforme distribución de sal posiblemente debido a las variaciones durante el proceso de los muchos factores que influyen en la absorción de sal en la cuajada y en el diseño del equipo de salado (Guinee, 2004, Lawrence et



IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

al., 2004). En el trabajo presentado por Morris et al. (1985) trabajaron con aproximadamente 100 kg de cuajadas obtenidas de fábricas irlandesas. La distribución homogénea de sal en lotes de quesos tan grandes son más difíciles de controlar que en casos con condiciones similares a las de este trabajo, en el que se usaron lotes de aproximadamente 5 kg, con lo que la mezcla de sal y cuajada puede ser más eficiente. Esto puede explicar el mejor resultado en el equilibrio de sal obtenido en nuestro caso comparado con lo encontrado por los otros autores. Schroeder et al. (1988), en cambio, encontraron que la sal era igualmente distribuida a lo largo de cada bloque, cuando realizaron un análisis de muestras aleatorias a lo largo de queso Cheddar.

Fox (1974) realizó un estudio en donde estudió la distribución de sal en diferentes sistemas de salado en masa: Lactomatic system (sistemas A y B), sistemas manuales de salado con técnicas diferentes de mezclado (sistemas C y D) y un sistema mecánico de salado (sistema E). Encontró que una buena distribución de sal (CV = 1,29%) es posible con sistemas comerciales de salado (sistema B) y que en el sistema de distribución manual (sistema C) la distribución de sal era muy pobre (CV = 9,42%). Además encontró tanto áreas con una elevada como con baja concentración de sal. En efecto, en el sistema manual encontró que las porciones de una mitad del queso tenían alta concentración de NaCl en promedio y que la otra mitad tenía una baja concentración promedio de sal. Ellos sugieren que los resultados probablemente podrían ser mejorados por: moler la cuajada un poco más pequeña, el uso de sal fina, garantizar que la sal sea seca y proporcionar una mezcla más a fondo después del agregado de sal. En este mismo trabajo sugieren que un rango de concentración de sal del 0,2% P/P es bastante satisfactorio. Si transformamos esa unidad de medición en una que sea comparable para cualquier tipo de concentración expresada, como por ejemplo la relación entre el rango y el promedio de la concentración, podemos calcular según los datos obtenidos en ese trabajo que una relación $\leq 0,1$ es bastante satisfactoria. En nuestro trabajo la mejor relación obtenida es de 0,3 para 4 semanas de maduración.

Al estudiar la distribución de sal y agua en queso Cheddar Morris et al. (1985) encontraron que aunque hubo una tendencia hacia el equilibrio de sal con el tiempo de maduración, persistieron grandes variaciones hasta las 24 semanas; incluso en el queso con la diferencia más estrecha entre la concentración máxima y mínima (15 semanas de maduración), la relación entre el rango y el promedio también fue de 0,3.

Es de esperar que un salado irregular produzca una considerable variación en la calidad de los quesos, debido a la influencia que tiene la concentración de sal en diversos factores como la actividad enzimática y el crecimiento de los microorganismos. Particularmente en queso Cheddar se produce un defecto asociado a la pobre distribución de sal, que es el depósito de cristales de lactato de calcio pentahidratado sobre la superficie de los mismos. Rajbhandari y Kindstedt (2005), observaron diferencias en el comportamiento de cristalización entre muestras de queso producidas a partir de la misma cuba; asociaron esto con las diferencias de composición que probablemente fueron causadas por el salado en masa irregular durante la fabricación. En efecto, la baja absorción de sal y la consecuente disminución de la expulsión de suero por parte de la cuajada durante el salado, dieron lugar a regiones de más baja concentración de sal y más alta humedad, en los quesos madurados producidos a partir del mismo lote. La muestras finales analizadas que tenían menor contenido de sal y más altos contenidos de humedad también contenían alta concentración de lactosa residual, lo que provocó más cantidad de L (+) Ácido láctico en esas muestras. La mayor concentración de ácido láctico dio lugar a un pH más bajo en el queso, lo que provocó un cambio en



el estado de agregación del calcio, pasando del estado insoluble al estado soluble. La concentración de lactato de calcio soluble fue aumentando en la superficie debido a la deshidratación, saturando así la fase acuosa y provocando la cristalización.

IV.4.3 Distribución de Agua

Los histogramas de distribución de humedad en cada uno de los siete tiempos de muestreo se presentan en la Figura IV.4. El patrón de distribución es estrecho hasta los 7 días de maduración, con una tendencia hacia el sesgo negativo. A partir de las 2 semanas de maduración la propagación comenzó a aumentar y no parecería tender hacia un patrón de distribución normal hasta el último tiempo de maduración estudiado.

En la Tabla IV.3 se puede ver la concentración media de agua, la desviación estándar, el coeficiente de variación y la comparación de las muestras para cada rodaja y tiempo estudiado. El coeficiente de variación global aumenta con el tiempo de maduración. Esto está relacionado con que aumenta la variación local de la concentración de agua debido al fenómeno de deshidratación producido en los quesos madurados; este fenómeno de deshidratación se puede observar en la concentración global de agua ya que disminuye significativamente durante todo el tiempo de maduración evaluado. Este comportamiento es generalizado para muchos tipos de quesos madurados sin envase. Además, probablemente colabora con este fenómeno la pérdida de suero por contracción de la cuajada (salting out), sobre todo en el primer tiempo de maduración estudiado.

Hasta las 24 hs de maduración no existen diferencias significativas entre las concentraciones medias de las rodajas y los coeficientes de variación son muy similares y varían entre el 3,00 % y el 4,80 %. A partir de este tiempo y durante todo el tiempo de maduración estudiado la rodaja A, que es la capa externa superior de los quesos, es la que menor concentración de agua tiene y presenta diferencias significativas con las demás rodajas. Al final del estudio las dos rodajas en contacto con el aire de la cámara (A y D) poseen concentración de humedad del mismo orden y sin diferencias estadísticas entre ellas. Esta zona externa además es la que mayor coeficiente de variación posee durante toda la maduración.

A partir de los 21 días comienzan a presentarse diferencias significativas en la concentración de agua entre las dos rodajas externas (A y D) y las rodajas centrales (B y C). Estas diferencias se mantienen hasta el último tiempo de maduración estudiado en donde se produce un secado importante también en una de las rodajas centrales (C) mostrando que la difusión entre el queso y el aire de la cámara es la que gobierna el proceso de transferencia de masa.

Cuando se añade sal seca a la cuajada, una parte de la sal se disuelve en el agua superficial disponible y se genera una capa de salmuera sobresaturada. Este proceso de disolución induce un contra-flujo de suero del interior de la cuajada hacia la superficie para restaurar el equilibrio de la presión osmótica (Guinee y Fox, 2004). Como resultado, el suero es expulsado de la cuajada a causa de la contracción localizada de la superficie (precipitación salina de la matriz de proteína). Este fenómeno tiene lugar en un tiempo corto después de la adición de sal y luego el proceso de sinéresis se mantiene relativamente constante, probablemente debido al estrecho empaquetamiento de las partículas de paracaseína en la cuajada y a la reducción de la porosidad y la permeabilidad resultante



IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

de la contracción de la cuajada. También es de esperar que la disminución gradual del tamaño del poro aumente la resistencia a la expulsión de suero de leche (Giroux et al., 2014). En nuestra experiencia este fenómeno se observa a las 5 hs del salado, cuando la concentración de agua disminuye desde $1,87 \text{ g agua} \cdot (\text{g ms})^{-1}$ en la cuajada inmediatamente antes del salado, a $1,30 \text{ gr agua} \cdot (\text{g ms})^{-1}$ para las 5 hs posteriores. Se puede ver en la Tabla IV.3 que la concentración de agua para este tiempo es mayor en la rodaja inferior (D) aunque sin diferencia significativa con las demás rodajas. El suero liberado por el efecto de sinéresis tiende a salir por la parte inferior del queso debido al efecto gravitacional. En trabajos previos (Santapaola et al., 2012) ya habíamos encontrado que en estas primeras horas existía un efecto gravitacional importante que producía un aumento significativo de la concentración de agua en la zona inferior de los quesos. Para disminuir este fenómeno, se aumentó el ritmo del volteo de los quesos en la cámara desde 1 vez en el trabajo antes mencionado a 10 veces en este estudio para estas 5 primeras horas.

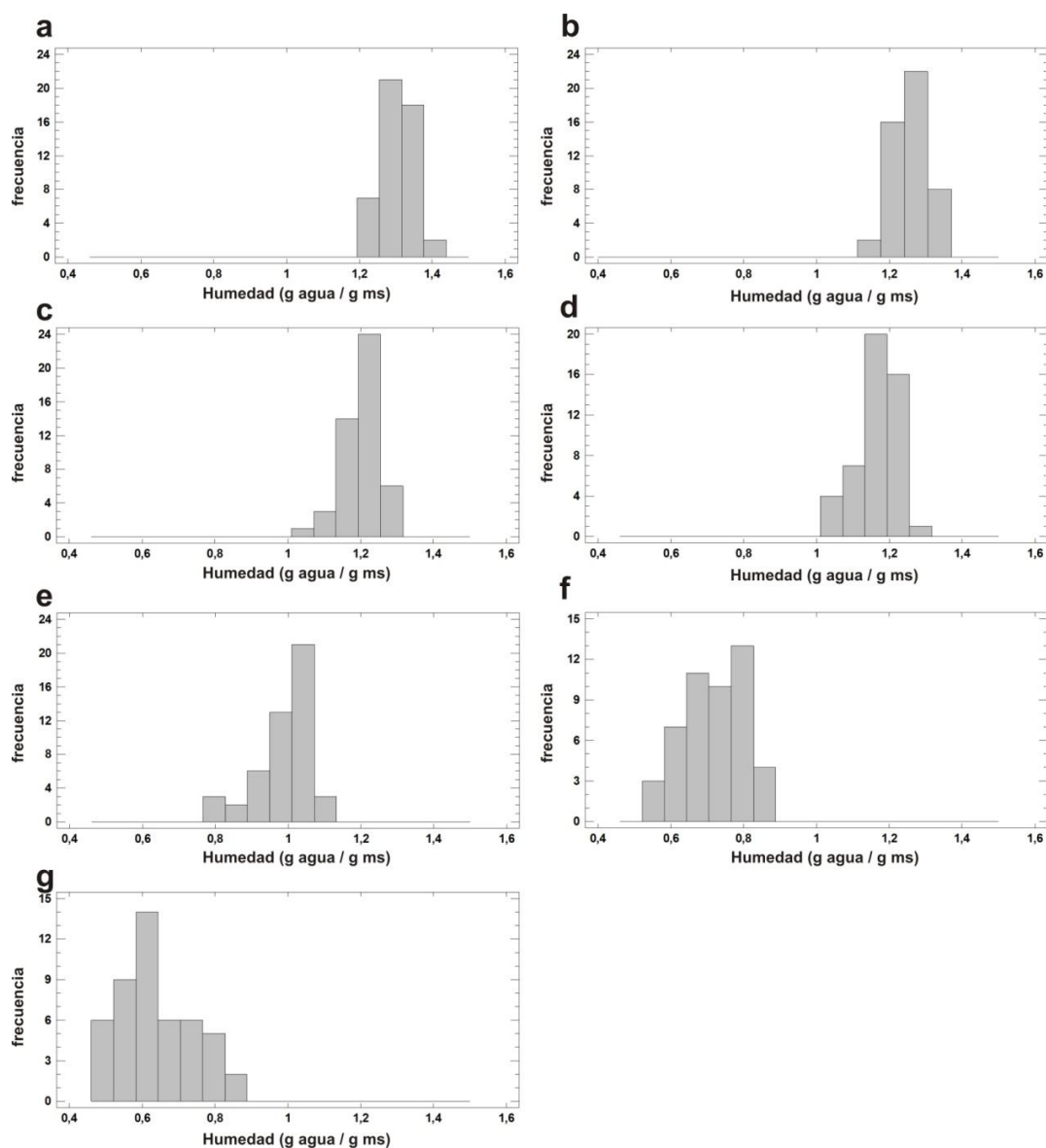


Figura IV.4. Histogramas de concentración de agua en 48 puntos de muestreo en queso de cabra de aproximadamente 500 gr durante 4 semanas de maduración. **a.** 5hs. **b.** 24 hs. **c.** 4 días. **d.** 1 semana. **e.** 2 semanas. **f.** 3 semanas. **g.** 4 semanas.

Tabla IV.3. Resultado del análisis estadístico de comparación de varias muestras para el factor Rodajas. Aplicación del Test de Tukey HSD para la comparación de las medias en cada tiempo.

* Concentración de agua en [g agua.(g ms)⁻¹];

Rodajas	5 horas		24 horas		4 días		7 días		14 días		21 días		28 días	
	Promedio * (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio (DE)	CV (%)	Promedio o (DE)	CV (%)
A	1,29 ^A (0,05)	3,88	1,25 ^A (0,06)	4,80	1,15 ^A (0,05)	4,35	1,11 ^A (0,05)	4,50	0,92 ^A (0,08)	8,70	0,62 ^A (0,04)	6,45	0,58 ^A (0,06)	10,34
B	1,30 ^A (0,04)	3,08	1,27 ^A (0,04)	3,15	1,22 ^B (0,04)	3,28	1,18 ^B (0,04)	3,39	1,00 ^B (0,03)	3,00	0,77 ^B (0,04)	5,19	0,78 ^B (0,04)	5,13
C	1,29 ^A (0,04)	3,10	1,26 ^A (0,04)	3,18	1,21 ^B (0,02)	1,65	1,21 ^B (0,03)	2,48	1,04 ^B (0,03)	2,88	0,80 ^B (0,03)	3,75	0,64 ^C (0,05)	7,81
D	1,33 ^A (0,04)	3,00	1,25 ^A (0,05)	4,00	1,23 ^B (0,03)	2,44	1,17 ^B (0,03)	2,56	1,00 ^B (0,09)	9,00	0,68 ^C (0,04)	5,88	0,56 ^A (0,03)	5,36
TOTAL	1,30^a (0,05)	3,85	1,26^b (0,05)	3,97	1,20^c (0,05)	4,17	1,17^d (0,05)	4,27	0,99^e (0,08)	8,08	0,72^f (0,08)	11,11	0,6^g (0,1)	16,67

^{A, B, C} Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (95% de confianza);

^{a, b, c, d, e, f, g} Letras diferentes en la fila de Total indican diferencia estadísticamente significativa (95% de confianza);

DE (desviación estándar); CV (coeficiente de variación)



IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

La transferencia de masa del NaCl está dominada por el proceso de difusión interno donde la desigualdad del potencial químico del NaCl domina el proceso de difusión. En cambio, para el equilibrio de agua, además del proceso de transferencia de masa difusivo buscando la igualdad de presión osmótica en la matriz del queso existe el fenómeno convectivo de transferencia de masa buscando el equilibrio entre el agua superficial del queso y las condiciones del aire de la cámara (Vélez-Ruiz, 2011). Este último fenómeno de transferencia de masa supera significativamente al proceso de difusión interna a partir de las tres semanas de maduración en donde tanto la rodaja superior como la inferior adquieren concentraciones de agua menores y con diferencias significativas con las rodajas centrales. Este tipo de perfil de deshidratación lo han encontrado otros autores para diferentes variedades de quesos madurados sin envasar, en general al finalizar el período de maduración (Guinee and Fox, 1983; Tabla et al., 2015; Vandenberghe et al., 2014; Pavia et al., 2000; El-Ella et al., 1988; Gombau y Chiralt, 1994; ver capítulo III).

Contrariamente a lo que ocurre en los quesos salados por salmuera o por salado superficial en donde la incorporación de sal se realiza desde el exterior y existe entonces un flujo neto de ingreso de NaCl y salida de agua hacia las porciones externas, en este tipo de salado los gradientes de concentración de agua y sal no tienen una dirección homogénea ya que dependen de las concentraciones locales de cada porción dentro de la masa del queso. En efecto, cuando la sal seca es distribuida sobre la superficie de los chips de cuajada, parte del NaCl se disuelve en el agua de la superficie de cada gránulo y difunde lentamente hacia el interior una corta distancia. Esto causa una contracorriente de agua del interior del chip hacia la superficie, que disuelve el resto de los cristales de sal y, en consecuencia, se crea una solución de salmuera sobresaturada alrededor de cada partícula, siempre que la mezcla de cuajada y sal sea adecuada. Posteriormente la incorporación de sal se produce de igual modo que en el salado en salmuera (Guinee, 2007b, ver capítulo II). Esto favorece el secado superficial del queso ya que los gradientes de concentración de NaCl no favorecen la difusión de agua hacia el exterior por lo que prácticamente durante todo el proceso de maduración la transferencia de agua de la superficie del queso hacia el aire de la cámara es la predominante. Esto puede verse ya a partir de la primera semana de maduración, la rodaja superior (A) tiene menor concentración de agua que las demás rodajas y hasta el final del período de maduración estudiado las rodajas externas tienen menor concentración de agua que las centrales, perfil diferente al encontrado en el salado por inmersión en salmuera o salado en seco, especialmente para los primeros tiempos de maduración (Luo et al., 2013; ver capítulo III). Así, a pesar del control de la humedad relativa de la cámara de maduración se produjo una deshidratación indeseable y excesiva, lo que provoca una pérdida de peso de casi el 30% al final del período de maduración.

En la Figura IV.5 pueden verse las concentraciones promedio de agua para cada rodaja y tiempo de maduración estudiados. Se puede notar la disminución pronunciada de humedad a partir de las 2 semanas de maduración y la menor concentración de las rodajas externas (A y D) comparadas con las rodajas internas (B y C).

Sheehan et al. (2009) estudiaron la distribución de la microbiota, las enzimas intracelulares y algunos índices de composición en bloques de queso Cheddar de 12 kg, encontraron para 1 día y 14 días de maduración que el porcentaje de humedad en las porciones externas fue mayor que en las secciones medias, mientras que observaron la tendencia opuesta a los 28 días y en el día 42.



Sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Guinee y Fox (1986b) encontraron que la corteza de queso Romano madurado sin envase prácticamente no varía su humedad o disminuye muy poco mientras que cuando lo envasaron con un film con baja permeabilidad al vapor de agua (Cryovac) (Guinne y Fox, 1986), la envoltura redujo la pérdida de humedad, el agua se retuvo dentro del envase por lo que obviamente el contenido de humedad de la corteza aumentó y en un período de maduración de 80-90 días, la humedad no se había equilibrado plenamente en cualquiera de los quesos ensayados.

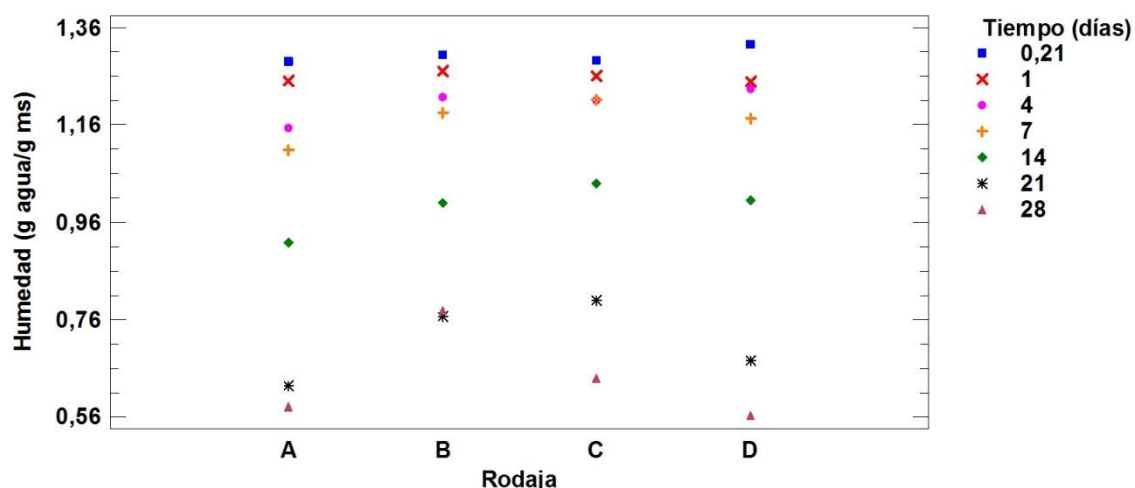


Figura IV.5. Concentración promedio de agua para cada rodaja y tiempo de maduración estudiado.

Si observamos las Figuras IV.3 y IV.5 podemos ver cómo el aumento de concentración de sal en las rodajas está relacionado con la pérdida de humedad. Por ejemplo, si observamos la rodaja C en la Figura IV.5, podemos ver que a los 28 días de maduración se produce una marcada disminución del valor de humedad y eso se refleja en la Figura IV.3 en donde para el mismo tiempo de maduración hay un aumento destacado de la concentración de sal para esa rodaja.

En general se acepta que existe una relación inversa entre los niveles de sal y agua tanto en quesos salados en salmuera como en quesos salados en seco (Guinee, 2007c). Esta correlación es más fácilmente observada en el salado en salmuera y/o en quesos salados por distribución de sal seca en su superficie en los que, inmediatamente después del salado, existe un gradiente de sal decreciente desde la superficie hasta el centro y se acompaña de un gradiente de humedad decreciente en la dirección opuesta (Guinee, 2007c, ver capítulo III). En la Figura IV.6 podemos observar la correlación existente entre la concentración de sal y la concentración de agua para los dos últimos tiempos de maduración estudiados. Para los primeros tiempos de maduración se encontró una considerable desviación por lo que, a pesar de que el contenido de sal promueve una sinéresis de la cuajada y es de esperar que variaciones en el contenido de sal influyan en el contenido de humedad, esta relación no se evidencia sino hasta que se manifiesta la deshidratación superficial de la masa del queso. Morris et al. (1985) también encontraron una obvia correlación inversa entre el contenido de humedad y el contenido de sal cuando estudiaron el salado de queso Cheddar, obteniendo un coeficiente de correlación de -0,61 y -0,72 para 1 día y 24 semanas de maduración respectivamente.

IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

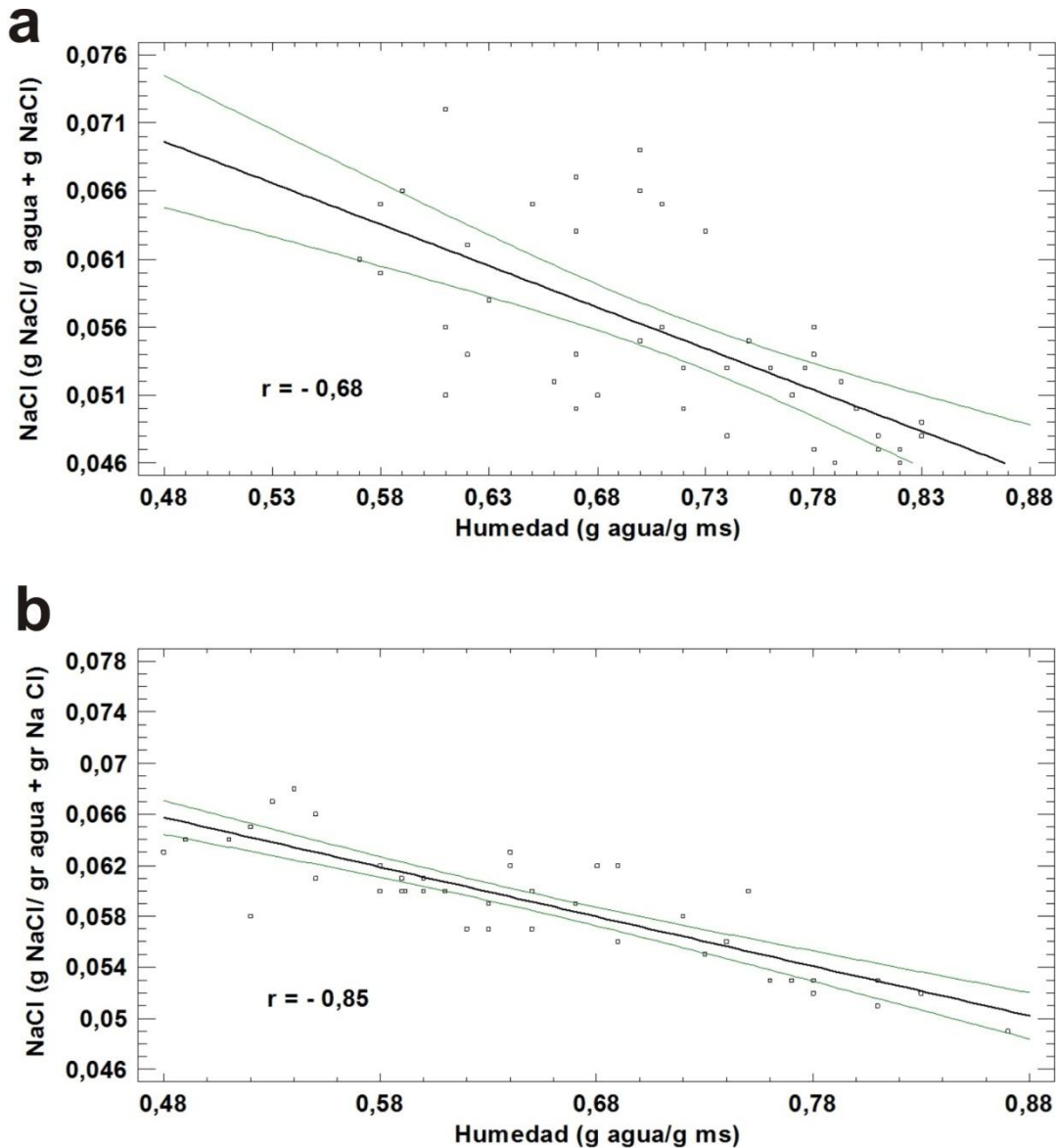


Figura IV.6. Correlación entre la concentración de Na Cl y agua para 48 puntos de muestreos. **a)** 3 semanas de maduración; **b)** 4 semanas de maduración.

Con el objetivo de conocer la cinética de la pérdida de agua sufrida por los quesos se analizó la variación del contenido de humedad en función del tiempo de maduración a través de un análisis de regresión simple, obteniéndose las siguientes ecuaciones para cada una de las rodajas:

Rodaja A: $\text{Humedad} = 1,2787 - 0,0269 \text{ Tiempo}$ - $R^2 = 0,9355$ (1)

Rodaja B: $\text{Humedad} = 1,2992 - 0,0209 \text{ Tiempo}$ - $R^2 = 0,9222$ (2)

Rodaja C: $\text{Humedad} = 1,3176 - 0,0235 \text{ Tiempo}$ - $R^2 = 0,9553$ (3)

Rodaja D: $\text{Humedad} = 1,3323 - 0,0279 \text{ Tiempo}$ - $R^2 = 0,9465$ (4)

siendo: Humedad = concentración de agua [g agua.(g ms)⁻¹]; Tiempo = (días)

En la figura IV.7 se muestran los perfiles de deshidratación de cada rodaja de los quesos estudiados. Se puede ver en las ecuaciones anteriores que los datos ajustan con una alta significación estadística a una ecuación lineal, lo que corresponde a curvas de velocidad de secado constante. Las pendientes de las rodajas A y D (-0,0269 y -0,0279, respectivamente) son mayores que las pendientes de las rodajas centrales B y C (-0,0209 y -0,0235, respectivamente), esto implica que la pérdida de agua es controlada por fuerzas impulsoras diferentes para cada una de las rodajas. Las pendientes de las rodajas externas son muy cercanas y podría deberse a que las condiciones externas controlan el proceso de secado, no así para las rodajas internas donde aparentemente los perfiles internos de agua en los quesos parecen controlar su eliminación.

Estas pendientes dan una pérdida de agua promedio para los quesos de $2,4 \pm 0,3$ % de humedad por cada día de maduración. Este valor es mucho más elevado al encontrado por Oliszewski et al. (2002) en quesos de cabra madurados en cámara por 20 días donde obtuvieron una pérdida de agua de 0,55% por día de maduración y también a la publicada por Guamis et al. (1997) donde informan una pérdida de $0,0035 \text{ g agua} \cdot (\text{g ms})^{-1}$ tanto para quesos Manchego salados en salmuera como para quesos salados por impregnación a vacío. Lo que evidencia el efecto del diseño de la cámara de refrigeración/maduración ya que si la velocidad del aire es muy alta la deshidratación superficial será más pronunciada.

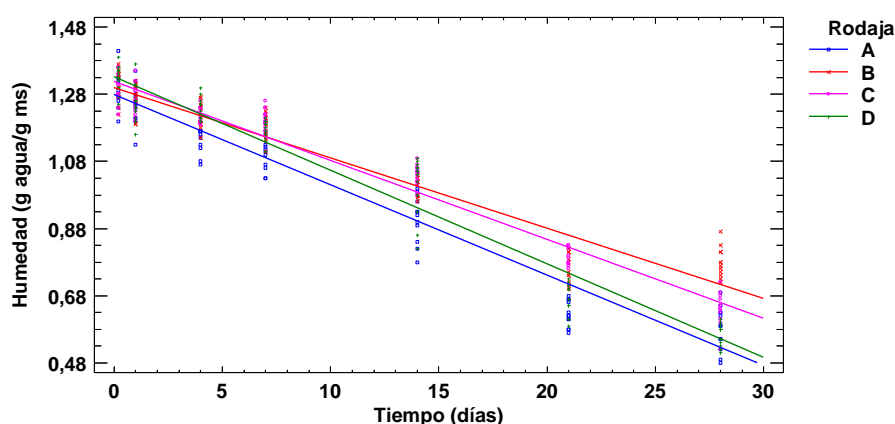


Figura IV.7. Perfil de secado de los quesos en función del tiempo de maduración. Puntos: datos experimentales. Líneas: regresión ajustada según ecuaciones 1-4.

Huc et al. (2014) estudiaron la dependencia espacial de la concentración de NaCl y de agua en quesos madurados envasados en films con permeabilidad al vapor de agua de $12 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, no encontraron pérdida de agua asociada al fenómeno de difusión de sal ni a la deshidratación convectiva, por lo que la concentración de agua fue prácticamente igual en toda la masa del queso durante todo el proceso de maduración. Por lo que el film de envasado se convierte en una importante variable tecnológica, ya que regula la transferencia de agua entre el queso y el ambiente durante la maduración.



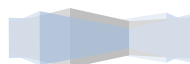
IV.5. CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de agua entre las rodajas hasta las 24 hs de maduración y comparando la cara superior con la inferior, para las 5 primeras horas de maduración se encontró mayor concentración de agua la zona inferior, aunque sin diferencia significativa, lo que está relacionado con el efecto gravitacional del desuerado aunque sin diferencia significativas con las demás rodajas. Desde el día posterior a la elaboración hasta las dos semanas de maduración se puede observar un perfil de deshidratación superficial de la rodaja superior con una menor concentración de humedad en esa rodaja. A partir de este tiempo y hasta el último tiempo estudiado (28 días) los quesos poseen un neto perfil de deshidratación con mayor pérdida de agua por día en las rodajas externas. Debido a esto, los coeficientes de variación globales aumentan durante todo el período de maduración estudiado.

A su vez, para la distribución de sal se obtuvo para el primer tiempo estudiado una baja concentración de NaCl en los quesos, comparada con la cantidad de sal agregada a la cuajada, lo que implica una pérdida del sal del casi el 44% en el suero. Hasta las 24 hs de maduración se encontró una significativa mayor concentración de sal en la rodaja inferior que en la rodaja superior debido a que la sal se disuelve en el suero del queso y la fase líquida tiende a salir por la parte inferior del queso debido al efecto gravitacional en concordancia con la distribución de humedad encontrada. Para la primera y segunda semana de maduración la concentración de NaCl no muestra diferencias significativas entre rodajas, obteniéndose también una disminución en los coeficientes de variación globales. En la tercera semana de maduración se produce un aumento significativo de la concentración de las rodajas exteriores por lo que el coeficiente de variación global aumenta. Este aumento de concentración está relacionado con el marcado perfil de deshidratación obtenido en los quesos para este tiempo. Para el final del tiempo de maduración el coeficiente de variación disminuye obteniéndose un valor de 6,78% y vuelve a producirse una homogenización entre las rodajas, salvo para una rodaja central que mantiene una concentración significativamente menor con respecto a las otras.

Para los dos últimos períodos de maduración estudiados en donde existe un gradiente neto entre las rodajas externas y centrales debido a la pérdida de agua por deshidratación, el coeficiente de variación disminuyó en un 50 % sugiriendo que el gradiente de NaCl neto que se produce en esta circunstancia ayuda a establecer el equilibrio en todo el queso. Es de remarcar que no está claro en la bibliografía qué equilibrio práctico respecto a la distribución de sal y de agua es aceptable para considerar que un queso ha obtenido una distribución de sal y agua que no produzca efectos indeseables durante la maduración.

Debido a que no hay un flujo neto de difusión de agua desde el centro de los quesos hacia la superficie, es importante para este tipo de salado, el envasado de los quesos con material de baja permeabilidad al vapor de agua a partir de la segunda o tercer semana de maduración, con el objetivo de evitar una pérdida de peso excesiva y favorecer el equilibrio de humedad en la masa de los quesos. Por lo tanto es necesario a futuro, estudiar el envase más adecuado para controlar el intercambio de vapor de agua y gases para evitar el deterioro indeseable, deshidratación, condensación, cambios de textura y la oxidación, entre otros.



IV.6. BIBLIOGRAFÍA

Agarwal, S.; McCoy, D.; Graves, W.; Gerard, P. D.; Clark, S. (2011). Sodium content in retail Cheddar, Mozzarella, and process cheeses varies considerably in the United States. *Journal of Dairy Science*, 94, 1605-1615.

Biswas, A. C.; Muthukumarappan, K.; Marella, C.; Metzger, L. E. (2014). Understanding the role of natural cheese calcium and phosphorous content, residual lactose and salt-in-moisture content on block-type processed cheese functional properties: Cheese hardness and flowability/meltability. *International Journal of Dairy Technology*, 68, 44-53.

Breene, W. M.; Olson, N. F.; Price, W. V. (1965). Salt absorption by Cheddar cheese curd. *Journal of Dairy Science*, 48 (5), 621-624.

Código Alimentario Argentino. (2014). Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf. Último acceso: 19/04/15.

Cosentino, E.; Perna, A.; Cosentino, C.; Larocca, M.; Gambacorta, E. (1999). A comparison of goat cheese made from milk with a varying content of α_{s-1} casein. Yield and chemical composition. *Latte*, 24(8), 38-41.

Duquesne, F.; Núñez de Villavicencio, M.; De Hombre, R. (1999). Elaboración de queso semiduro a partir de leche de cabra. *Alimentaria*, (302), 63-65.

El-Ella, W. A., Baky, A. A., Aly, M. E., & Fox, P. F. (1988). Effect of ripening temperatures on proteolysis and lipolysis in the outer and inner regions of Ras-type cheese made by various salting methods. *Food chemistry*, 28(1): 1-16.

Fox, P. F. (1974). Salt distribution in Cheddar cheese. *Irish Journal of Agricultural Research*, 13(2): 129-135.

Fox, P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg.

Fox, P. F., T. P. Guinee, T. M. Cogan, and P. L. H. McSweeney. (2000). Salting of cheese curd. *In: Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, Páginas 153-168.

Gilles, J. (1976). Control of salt on moisture levels in Cheddar cheese. *New Zealand journal of dairy science and technology*, 11, 219-221.

Giroux, H. J., Bouchard, C., & Britten, M. (2014). Combined effect of renneting pH, cooking temperature, and dry salting on the contraction kinetics of rennet-induced milk gels. *International Dairy Journal*, 35(1), 70-74.

Gombau, J. B.; Chiralt, A. (1994). Evolución de perfiles de humedad y actividad de agua durante la maduración de queso Manchego. En: Fito, P.; Mulet, A.; Hernández E.; Vidal, D. (eds). *Anales de*

Investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos, Vol. 3. Universidad Politécnica de Valencia, España.

Grummer, J., Karalus, M.; Zhang, K.; Vickers, Z.; Schoenfuss, T. C. (2012). Manufacture of reduced-sodium Cheddar-style cheese with mineral salt replacers. *Journal of Dairy Science*, 95, 2830-2839.

Guamis, B.; Trujillo, A. J.; Ferragut, V.; Chiralt, A.; Andres, A.; Fito, P. (1997). Ripening control of Manchego type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 7(2), 185-192.

Guinee, T. P. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 99-109.

Guinee, T. P. (2007). 39 Introduction: what are the functions of NaCl in cheese? *In: P. L. H. McSweeney (Ed.), Cheese problems solved*, pp. 80-81.

Guinee, T. P. (2007b). 41 What are the differences between dry-salting and brine-salting? *In: Cheese problems solved*, P. L. H. McSweeney (Ed.), pp. 84-86.

Guinee, T. P. (2007c). 43 How does NaCl affect cheese composition? *In: Cheese problems solved*, P. L. H. McSweeney (Ed.), pp. 90-91.

Guinee, T. P.; Fox, P.F. (1983). Changes in Sodium Chloride and Moisture Levels in Romano-Type Cheese during Ripening. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 7: 119-128.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1986). Influence of cheese geometry on the movement of Sodium Chloride and water during ripening. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 10: 97-118.

Guinee, T. P. ; Fox, P. F. (1986b). Influence of cheese geometry on the movement of sodium chloride and water during brining. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 10: 73-96.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (2004). Salt in cheese: Physical, chemical and biological aspects. *In: Cheese: Chemical, Physics and Microbiology*, Vol. 1. 3rd ed. P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, T. M. Cogan, and T. P. Guinee (Eds.), Elsevier Ltd., London, UK, pp. 207-259.

Hoecker, W. H., & HAMMER, B. W. (1944). Salt migration in cheddar cheese curd and its effect on moisture content, pH, and bacterial content. *Journal of Food Science*, 9(4), 278-288.

Huc, D., Challos, S., Monziols, M., Michon, C., & Mariette, F. (2014). Spatial characterisation of eye-growing kinetics in semi-hard cheeses with propionic acid fermentation. *International Dairy Journal*, 39(2): 259-269.

Johnson, M.; Law, B.A. (2010). 2 The Origins, Development and Basic Operations of Cheesemaking Technology. *In: Technology of Cheesemaking*, Law, B. A. y Tamime, A. Y. (Editores), Segunda Edición, Wiley-Blackwell, pág. 68-96.

Kondyli, E.; Katsiari, M.C.; Voutsinas, L.P. (2008). Chemical and sensory characteristics of Galotyri-type cheese made using different procedures. *Food Control*, 19: 301-307.



Lawrence, R. C., Gilles, J., Creamer, L. K., Crow, V. L., Heap, H. A., Honoré, C. G., Johnston, K. A. & Samal, P. K. (2004). Cheddar cheese and related dry-salted cheese varieties. *In: Cheese: chemistry, physics and microbiology*, 2, 71-102.

Lu, Y.; McMahon, D. J. (2015). Effects of sodium chloride salting and substitution with potassium chloride on whey expulsion of Cheddar cheese. *Journal of dairy science*, 98(1), 78-88.

Maldonado, S.; Bernal, R.; Burgos, L.; Santapaola, J. (2012). Production and commercialization of goat milk and cheese in northwest Argentina. *In: Goats: Habitat, breeding and management*. Garrote, D. and Arede, G. (Eds.). Nova Science Publishers. New York. pp.1-38.

McDowall, F. H.; Whelan, L. A. (1932). 55. The Distribution of Salt in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Research*, 4(01), 147-153.

McMahon, D. J.; Paulson, B.; Oberg, C. J. (2005). Influence of calcium, pH, and moisture on protein matrix structure and functionality in direct-acidified nonfat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 88, 3754-3763.

McMahon, D. J.; Oberg, C. J.; Drake, M. A.; Farkye, N.; Moyes, L. V.; Arnold, M. R.; Ganesan, B.; Steele, J.; Broadbent, J. R. (2014). Impact of sodium, potassium, magnesium, and calcium salt cations on pH, proteolysis, organic acids, and microbial populations during storage of full fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 97 (8), 4780-4798.

Møller, K. K.; Rattray, F. P.; Høier, E.; Ardö, Y. (2012). Manufacture and biochemical characteristics during ripening of Cheddar cheese with variable NaCl and equal moisture content. *Dairy science and technology*, 92(5), 541-568.

Morris, T. A. (1961). Observations on the salting of Cheddar and Gouda cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 16(1), 31-32.

Morris, H. A.; Guinee, T. P.; Fox, P. F. (1985). Salt diffusion in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 68(8), 1851-1858.

Nair, S. S., V. V. Mistry, and K. R. Nauth. (2004). Reduction of salt (NaCl) losses during the manufacture of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 87, 2831-2838.

Oliszewski, R.; Rabasa, A. E.; Fernández, J. L.; Poli, M. A. (2002). Composición química y rendimiento quesero de la leche de cabra Criolla Serrana del noroeste argentino. *Zootecnia Tropical*, 20(2), 179-189.

Paulson, B. M.; McMahon, D. J.; Oberg, C. J. (1998). Influence of sodium chloride on appearance, functionality, and protein arrangements in nonfat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 81, 2053-2064.

Pavia M.; Trujillo, A. J.; Sendra E.; Guamis B.; Ferragut V. (2000). Free fatty acid content of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 10: 563-568.

IV. DISTRIBUCIÓN DE SAL Y AGUA EN QUESO DE CABRA SALADO EN MASA Y SU EVOLUCIÓN DURANTE LA MADURACIÓN

Payne, M. R.; Morison, K. R. (1999) A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. *International Dairy Journal*, 9 (12), 887-894.

Pierre, A., Le Quéré, J. L., Famelart, M. H., Riaublanc, A., & Rousseau, F. (1998). Composition, yield, texture and aroma compounds of goat cheeses as related to the A and O variants of α_{s-1} casein in milk. *Le Lait*, 78(3), 291-301.

Rajbhandari, P.; Kindstedt, P. S. (2005). Compositional factors associated with calcium lactate crystallization in smoked Cheddar cheese. *Journal of dairy science*, 88(11): 3737-3744.

Santapaola, J.; Andrés, A.; Maldonado, S.; Fernández, M. (2012). Application of the response surface analysis method to the study of salt and water profiles in goat's cheese salted in layers. *Journal of Food Process Engineering*, 35(3), 355-369.

Schroeder, C. L.; Bodyfelt, F. W.; Wyatt, C. J.; McDaniel, M. R. (1988). Reduction of sodium chloride in Cheddar cheese: effect on sensory, microbiological, and chemical properties. *Journal of Dairy Science*, 71(8): 2010-2020.

Sheehan, A.; O'Cuinn, G.; FitzGerald, R. J.; Wilkinson, M. G. (2009). Distribution of microbial flora, intracellular enzymes and compositional indices throughout a 12kg Cheddar cheese block during ripening. *International dairy journal*, 19(5): 321-329.

Srbínovska, S.; Čizbanovski, T.; Džabirski, V.; Andonov, S.; Palasevski, B. (2001). Dynamics of salt diffusion and yield of three types of goat's milk cheese. *Mljekarstvo*, 51(1), 15-26.

Sutherland, B. J. (1974). Control of salt absorption and whey drainage in Cheddar cheese manufacture. *Australian Journal of Dairy Technology*, 29, 86-93.

Sutherland, B. J. (1977). Some observations on salt and moisture concentration gradients in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 32, 17-18.

Tabla, R.; Gómez, A.; Rebollo, J. E.; Roa, I. (2015). Salt influence on surface microorganisms and ripening of soft ewe cheese. *Journal of Dairy Research*, 82 (2): 215-221.

Tarakci, Z.; Sagun, E.; Sancak, H.; Durmaz, H. (2004). The effect of salt concentration on some characteristics in herby cheese. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(4), 232-236.

Vandenberghe, E.; Choucharina, S.; Luca, S.; De Ketelaere, B.; De Baerdemaeker, J.; Claes, J. (2014). Spatio-temporal gradients of dry matter content and fundamental material parameters of Gouda cheese. *Journal of Food Engineering*, 142, 31-38.

Vélez-Ruiz, J. F. (2011). *Mass Transfer in Cheese*. INTECH Open Access Publisher.

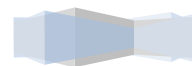


V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE
LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE
CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR
HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL
MÉTODO DE SALADO EN LA
PROTEÓLISIS PRIMARIA

V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

V.1. RESUMEN

La identificación y separación de α -caseína, β -caseína y κ -caseína en los quesos de cabra por HPLC-UV usando una columna de fase reversa Phenomenex Júpiter de 5 μm , C18, 300 Å , 250 x 4,6 mm fue optimizada y validada. Se emplearon dos solventes para proporcionar el gradiente de elución necesario. Fase móvil A: ácido trifluoroacético 0,1% en agua y Fase móvil B: acetonitrilo:agua:ácido trifluoroacético (95:5:0,1), flujo de 1 ml min^{-1} y temperatura de columna de 46°C. La detección de las fracciones de caseínas se realizó con un detector UV visible con arreglo de fotodiodo. Se trabajó con longitudes de onda de 220 nm, 254 nm y 280 nm. Para la validación del método se usaron como patrones caseínas bovinas comerciales Sigma-Aldrich con grado de pureza certificado de 90%, 98% y 88% para α -, β - y κ - caseínas bovinas, respectivamente. Los rangos lineales de concentraciones ensayados fueron para la α -caseína de 2,7036-0,0216 mg ml^{-1} , para la β -caseína 2,793-0,0447 mg ml^{-1} y para la κ -caseína de 2,6136-0,0366 mg ml^{-1} . El procedimiento se utilizó luego para la identificación de caseínas caprinas, para ello se realizaron extracciones de caseínas de queso de cabra. Se lograron identificar las fracciones caseínicas por comparación con los tiempos de retención de los estándares y utilizando bibliografía específica. De estas observaciones se concluyó que las fracciones de caseínas eluyen en el orden: para κ -caseína, α_{s2} -caseína, α_{s1} -caseína y β -caseína. Se evaluó además la precisión del método analítico y del método de extracción. Los valores de los Coeficientes de Variación (CV) para el tiempo de retención de las fracciones identificadas, a partir del análisis de las muestras de caseínas de cabra, fueron menores a 1,00% dentro de un mismo día de trabajo y menores al 1,56% entre días de trabajo. Los CV para las áreas de pico fueron menores a 5,33% dentro de un mismo día de trabajo y menores al 8,49% entre días de trabajo. El método utilizado en este trabajo puede ser aplicado para la separación e identificación de caseínas homólogas a las bovinas como son las caprinas y ovinas. Se observó que el análisis mediante HPLC-UV en fase reversa de las fracciones de caseínas en las muestras de queso de cabra bajo las condiciones cromatográficas utilizadas proporcionó una buena separación. Por lo tanto, la evolución de la proteólisis de caseínas en quesos de cabra salados en seco por dos métodos diferentes durante 28 días de maduración fue seguida por esta metodología. En general en los quesos de cabra salados en seco se produjo una ligera degradación de las caseínas durante el período de maduración estudiado. Se observó que la α_{s1} -caseína fue la fracción que mayor degradación sufrió durante ese período, pero sólo en aquellos quesos cuya proporción inicial fue alrededor del 5% con respecto al total de caseína. La mayor degradación de esta fracción ocurre en el transcurso del primer día de maduración. Las otras fracciones se mantuvieron con una baja degradación, salvo para la β_1 -caseína en los quesos salados superficial, en donde se encontró una degradación de casi el 45%.



V.2. INTRODUCCIÓN

En el proceso de elaboración del queso hay muchos factores que influyen para obtener un producto de buena calidad higiénica y organoléptica. Uno de estos factores es el tipo de salado, que influye en la concentración final de sal (Santapaola et al., 2012) y esto determina propiedades organolépticas como el sabor, la textura y el color, además de modificar la actividad microbiológica y producir cambios físicos en las proteínas del queso (Guinee y Fox, 2004). En efecto, el nivel de sal tiene un efecto importante en la composición del queso, en las actividades enzimáticas y en cambios bioquímicos como glucólisis, proteólisis, lipólisis e hidratación de la paracaseína, fenómenos todos que ocurren durante la maduración (Guinee y Fox 2004).

La hidrólisis de las proteínas del queso es de vital importancia en el desarrollo de la textura apropiada y de la calidad organoléptica de los quesos madurados y ha sido estudiado extensamente (Fox, 1989; Lawrence et al., 1987; González de Llano et al., 1991; Urbach, 1993; Resmini et al., 1993; Engels and Visser, 1994; Wilkinson et al., 1994). Los aminoácidos, los ácidos grasos, las metil-cetonas de diferentes longitudes de la cadena carbonada, las lactonas y muchos otros compuestos orgánicos se liberan y se concentran en el proceso de maduración dependiendo particularmente del tipo de queso y de sus condiciones de almacenamiento. La proteólisis en los quesos está afectada por una multitud de factores incluidos la actividad residual del coagulante, las proteasas nativas de la leche y las proteasas y peptidasas del fermento, el pH, la relación caseína:humedad y sal:humedad y la temperatura de maduración (Farkye et al., 1991).

De acuerdo a la solubilidad a pH 4,6 a 20°C, las fracciones proteicas pueden dividirse en caseínas, insolubles a este pH y en proteínas del suero, que son solubles. Las caseínas son, cuantitativamente los componentes proteicos más importantes de la leche (Velooso et al., 2002). Este complejo proteico, conocido como micela, está formado por cuatro diferentes caseínas (α_{s1} -, α_{s2} -, β - y κ - caseínas) que se mantienen unidas en una sola estructura por interacciones no-covalentes y se encuentran en la leche formando una dispersión (Ausar et al., 2001).

Durante el proceso clásico de elaboración de quesos son las caseínas las proteínas que forman la cuajada luego del proceso enzimático de coagulación. La hidrólisis inicial de esta fracción proteica resulta en la formación de péptidos de gran tamaño y tamaño intermedio que son degradados más tarde por el coagulante residual y las enzimas provenientes de los microorganismos del starter o nativas, en péptidos pequeños y aminoácidos (Sousa et al., 2001).

Las concentraciones iniciales de sal y agua en quesos salados por distribución de sal seca, ya sea en su superficie o por mezcla de sal con porciones pequeñas de cuajada, son diferentes dependiendo de la zona de muestreo del queso. Durante el proceso de maduración ocurre una redistribución de la sal y del agua debido a la difusión de estos componentes, hasta que se alcanza una concentración uniforme en el equilibrio (Zorrilla y Rubiolo, 1994). Como resultado, se observaron diferentes contenidos de sal y agua en diferentes zonas del queso durante su maduración, lo que puede afectar la degradación de proteínas, en concordancia con lo reportado por Zorrilla y Rubiolo (1997).

No existe una clara correlación entre la proteólisis primaria y el nivel de sal (Farkye et al., 1991). Estudios realizados en queso Mozzarella han reportado que la sal no afecta la cantidad de

V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

péptidos solubles (Guinee et al., 2000) o la velocidad de hidrólisis de α_{s1} -caseína o β -caseína (Farkye et al., 1991), sin embargo otros estudios han reportado que la sal aumenta la proteólisis (Lawrence et al., 1987; Joshi et al., 2002) y por otro lado Thomas y Pearce (1981) han encontrado una relación inversa entre las velocidades de degradación de las α_{s1} - y β -caseínas y la relación sal:humedad.

Aunque existen muchos datos documentados sobre proteólisis y lipólisis en quesos de leche de vaca, estos resultados no son directamente aplicables a quesos de cabra ya que la composición proteica inicial de las leches de vaca y cabra tienen profundos efectos en las características de la proteólisis durante la maduración de quesos (Park, 2001). En efecto, la movilidad electroforética bajo condiciones estándares muestra que la β -caseína es el componente mayoritario de la fracción de caseína en la leche de cabra, cuando la α_{s1} -caseína es el componente mayoritario de la leche de vaca (Jenness, 1980). La leche de cabra también tiene una mayor concentración de α_{s2} - y κ -caseína que la leche de vaca. Debido a estas diferencias composicionales, las características de la proteólisis de la leche de las dos especies son significativamente diferentes (Park, 2001).

El control de calidad de la leche y sus derivados es un campo muy demandado y necesita métodos económicos, que ahorren tiempo y sean seguros (Ferreira et al., 2001). Se han adoptado muchos métodos analíticos para seguir el fenómeno de la proteólisis durante la maduración de quesos y evaluar la influencia de diferentes tipos de tratamientos tecnológicos. El más comúnmente usado ha sido la precipitación fraccionada con ácidos o solventes (Fox, 1989) y en los últimos años se ha utilizado la Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase reversa (RP-HPLC) para analizar los compuestos nitrogenados (Christensen et al., 1989; Gonzalez de Llano et al., 1995; Laborda y Rubiolo, 1999).

El uso de HPLC ha derivado en análisis rápidos y automáticos con buena separación y alta resolución que proporciona resultados precisos y reproducibles. Se la ha utilizado, por ejemplo, para la identificación de componentes del flavor de queso Cheddar en la fracción proteica soluble en agua (Aston y Creamer, 1986), para el estudio de los péptidos provenientes de la caseína (Bican, 1983), para la evaluación de la cinética de la quimosina en algunos enlaces peptídicos de la β -caseína bovina (Carles y Dumas, 1984), para una estimación del tiempo óptimo de maduración del queso Reggianito Argentino (Sihufe et al., 2010a), para estudiar la degradación de la caseína en queso Fynbo (Sihufe et al., 2003), para la separación y cuantificación de las principales fracciones de caseínas (Velooso et al., 2002), para estudiar la influencia de la temperatura de maduración y el sitio de muestreo en la proteólisis de queso Reggianito Argentino (Sihufe et al., 2010b), para estudiar el efecto del tiempo de maduración y la zona de muestreo en las fracciones nitrogenadas de queso Port Salut Argentino (Verdini et al., 2004).

La determinación de las caseínas individuales y sus productos de degradación en la leche, el queso y otros productos lácteos es muy importante, ya que puede proporcionar información valiosa. Consecuentemente, los perfiles cromatográficos de las fracciones caseínicas de quesos de cabra salados por diferentes métodos, que producen quesos con diferente concentración de sal y agua, pueden ser de gran importancia cuando se requieren atributos uniformes para satisfacer la aceptabilidad del consumidor.

En este capítulo se presentan los estudios y resultados referentes a la puesta a punto y validación de un método de RP-HPLC para la separación y el análisis cualitativo y simultáneo de caseínas caprinas. A partir de esto, se estudió la evolución de la proteólisis primaria en quesos de cabra salados en seco por dos métodos diferentes y madurados por 4 semanas.

V.3. MATERIALES Y MÉTODOS

V.3.1. Muestras

Se realizaron cuatro elaboraciones diferentes de queso, cada una de ellas partiendo de 40 litros de leche de cabra obtenida del mismo tambo caprino de la zona de los valles jujeños. Dos de los lotes de quesos elaborados fueron salados por mezcla de sal con granos de cuajada (salado en masa) según la metodología descrita en el capítulo IV y los otros dos lotes de quesos fueron salados por distribución de sal seca sobre la superficie (salado superficial) según la metodología descrita en el capítulo III. Para cada método de salado estudiado se realizó una elaboración al comienzo del verano (época de mayor producción de leche en la zona) en el mes de Noviembre y otra elaboración al final del verano en el mes de Marzo, durante dos años consecutivos. Las combinaciones realizadas fueron las siguientes:

Lote 1: Marzo Año 1 - Quesos salado superficial.

Lote 2: Noviembre Año 1 - Quesos salado en masa.

Lote 3: Marzo Año 2 - Quesos salado en masa.

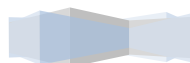
Lote 4: Noviembre Año 2 - Quesos salado superficial.

Un queso de cada lote fue escogido previo al salado (cuajada), a las 5 horas, 1 día, 4 días, 1, 2, 3 y 4 semanas de maduración. Se extrajeron las caseínas de dos muestras previamente homogeneizadas de cada queso y cada una fue analizada por duplicado. Los quesos fueron elaborados y madurados según la metodología descrita en los capítulos III y IV.

V.3.2. Preparación fases móviles

La Fase Móvil A consiste en ácido trifluoroacético (TFA) 0,1% en agua y la Fase Móvil B acetonitrilo:agua:TFA (95:5:0,1); ambas se filtraron al vacío empleando membrana Millipore de éster de celulosa (mezclados) con tamaño de poro de 0,45 μm .

Se trabajó con Acetonitrilo Sintorgan grado HPLC; agua bidestilada obtenida en el laboratorio por destilación de agua destilada en presencia de permanganato de potasio; ácido trifluoroacético Sigma-Aldrich ReagentPlus 99%.



V.3.3. Sistema y condiciones cromatográficas

El equipo de HPLC utilizado es un Cromatógrafo SpectraSYSTEM - Thermo Electron compuesto por los siguientes módulos: Desgasificador SCM 1000, Bomba binaria P2000, Detector UV-vis UV 6000LP PDA, inyector Rheodyne con loop de 20 μL , columna Phenomenex 5 μm , C18, 300 \AA , 250 x 4,6 mm ID, software ChromQuest 4.1 SP2 y horno del sistema Derivatizador Post Columna Pickering PCX 5200.

El desarrollo del proceso cromatográfico se realizó siguiendo un gradiente lineal en donde la Fase Móvil B varió la proporción con respecto a Fase Móvil A, de 29 a 100% siendo el tiempo total de corrida de 40 minutos (Veloso et al., 2002). El flujo fue de 1 ml min^{-1} , la temperatura de columna de $46 \pm 1^\circ\text{C}$ para lo cual se empleó el módulo Pickering PCX 5200 y detección a 220 nm.

V.3.4. Preparación de patrones de caseínas

Considerando que no se encuentran disponibles comercialmente estándar de caseínas de cabra, como también lo expresa Montalbano et al. (2014), se trabajó con α - β - y κ - caseínas bovinas marca Sigma-Aldrich con grado de pureza certificado de 90%, 98% y 88%, respectivamente.

Se preparó una solución madre de cada estándar disolviendo en una mezcla de solvente A y solvente B (70:30, v/v). Las concentraciones preparadas teniendo en cuenta la pureza fueron: 2,7036 mg.ml^{-1} para la α -caseína, 2,793 mg.ml^{-1} para la β -caseína y 2,6136 mg.ml^{-1} para la κ -caseína.

A partir de estas soluciones madres se prepararon las siguientes diluciones manteniendo siempre el mismo disolvente:

DILUCION	α -caseína	β -caseína	κ -caseína
1	1,7303 mg.ml^{-1}	0,6980 mg.ml^{-1}	1,3068 mg.ml^{-1}
2	1,3518 mg.ml^{-1}	0,3350 mg.ml^{-1}	0,3650 mg.ml^{-1}
3	0,1892 mg.ml^{-1}	0,1676 mg.ml^{-1}	0,1045 mg.ml^{-1}
4	0,0216 mg.ml^{-1}	0,0447 mg.ml^{-1}	0,0366 mg.ml^{-1}

V.3.5. Extracción de caseínas

Las caseínas se extrajeron de muestras de 0,5 g de queso de cabra de acuerdo con el procedimiento descrito por Veloso et al. (2002). Las muestras se homogeneizaron en un mortero con el agregado de 10 ml de buffer de acetato de amonio 1 M pH 4,3. La suspensión resultante fue mantenida por 20 minutos a 8°C en refrigeración. Luego fue centrifugada durante 15 minutos a 2000 g para recuperar el precipitado de caseínas. Este procedimiento se repitió dos veces más. Con el objetivo de eliminar la grasa remanente, las muestras finalmente fueron lavadas con acetona y luego se dejaron secar bajo campana a temperatura ambiente. Finalmente, el polvo seco de caseínas fue almacenado en desecador a 8°C hasta la preparación de las muestras.

V.3.6. Preparación de muestras

El polvo de caseína fue disuelto en una mezcla de fase móvil A y fase móvil B (70:30, v/v) de manera de obtener una concentración final de caseína de $(4,00 \pm 0,04)$ mg.ml⁻¹. La solución se filtró a través de filtros de nylon de 0,45 µm de poro y seguidamente analizadas o congeladas a -20°C hasta su análisis.

V.3.7. Validación del método

V.3.7.1. IDENTIFICACIÓN

La detección de las fracciones de caseínas se realizó con un detector UV visible con arreglo de fotoiodo. Se trabajaron con longitudes de onda de 220 nm, 254 nm y 280 nm.

La identificación se llevó a cabo utilizando los tiempos de retención correspondientes a los picos cromatográficos de los patrones.

V.3.7.2. LINEALIDAD

La linealidad de un procedimiento analítico se define como su capacidad (dentro de un intervalo) para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración (cantidad) del analito presente en la muestra. El estudio de linealidad se llevó a cabo utilizando un patrón externo. Para ello, se construyeron rectas de calibrado modelando el área de pico obtenido en función de la concentración de los patrones de las fracciones de caseínas utilizadas.

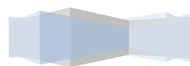
Los distintos niveles de concentración utilizados para la construcción de las rectas de calibrado se inyectaron por triplicado.

V.3.7.3. ESTUDIOS DE PRECISIÓN

El objetivo del estudio de la precisión es conocer la variabilidad del método de ensayo. Esta variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo. Como consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados idénticos. Los factores susceptibles de influir sobre los resultados de un ensayo no pueden ser siempre controlados (analista, equipo instrumental, reactivos, tiempo, etc.) de aquí la importancia del estudio de la precisión.

La precisión es una medida del grado de separación o dispersión entre las medidas realizadas empleando un método analítico y trabajando en condiciones normales de operación. Se expresa normalmente como porcentaje de desviación estándar relativa (DER) o coeficiente de variación (CV). La precisión debe evaluarse a dos niveles: repetitividad y reproducibilidad.

La repetitividad es una medida del grado de dispersión de una serie de medidas realizadas en un espacio de tiempo corto (en un mismo día). La reproducibilidad es una medida de la dispersión de los resultados obtenidos por un método analítico en un espacio de tiempo más amplio que la



repetitividad, modificando ciertas condiciones de operación: diferentes días, analistas, equipos, etc.

Para cumplir los objetivos marcados en el presente trabajo, la precisión fue evaluada tanto para el método analítico como para el proceso de extracción.

La medida de precisión, expresada como coeficiente de variación (CV), se determinó mediante la expresión:

$$\% CV = (s/x) \times 100 \quad (1)$$

donde s y x representan los valores de desviación estándar y valor medio de una serie de medidas repetidas.

Para los estudios de precisión se utilizaron muestras de queso de la misma elaboración y tiempo de maduración. Se realizó la extracción en muestras de 0,5 gr de queso.

V.3.7.3.1. Repetitividad

Repetitividad del proceso de extracción: Para llevar a cabo la repetitividad del proceso de extracción se realizaron 4 extracciones de la muestra de queso de cabra inyectando cada una por duplicado en la misma sesión de trabajo.

Repetitividad del método analítico: en este caso se analizaron 4 replicados de una misma extracción de caseína de queso de cabra, en la misma sesión de trabajo.

V.3.7.3.2. Reproducibilidad

Reproducibilidad del proceso de extracción: para la reproducibilidad del proceso de extracción se realizaron 4 extracciones de caseínas de queso de cabra de la misma muestra en 4 sesiones diferentes a lo largo de 10 meses de trabajo, inyectando cada una de ellas por duplicado.

Reproducibilidad del método analítico: en el caso de la reproducibilidad del método analítico se analizó la misma muestra de caseína de queso de cabra en 4 sesiones de trabajo a lo largo de un período de 15 días.

V.3.8. Análisis estadístico

Para la obtención de las curvas de calibrado y el estudio de la linealidad, precisión y exactitud tanto del método de extracción como del método analítico se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.11.

Para estudiar la influencia del tiempo de maduración, el método de salado y la interacción de estos dos factores, se realizó un Análisis de Covarianza (ANCOVA), tomando como Covariable el Área Inicial de las fracciones de caseínas en las cuajadas. Para discriminar dentro de un mismo método de salado la influencia del tiempo de maduración, se realizó un análisis de Varianza Simple considerando al tiempo de maduración como factor. Se consideraron diferencias

significativas para $P < 0,05$. Las diferencias entre las media se discriminaron utilizando el método de Tukey. Para todas las pruebas estadísticas se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.11.

V.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

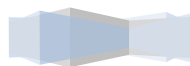
V.4.1. Separación e Identificación de las fracciones mayoritarias de caseínas en queso de cabra

La concentración de caseína en las muestras de queso fue de (22 ± 3) g/100 gr queso. La identificación de los picos de las fracciones de caseínas fue confirmada por comparación con los estándares comerciales de caseínas purificadas bovinas.

En la Figura V.1a-c se muestran los cromatogramas obtenidos a 220 nm, según las condiciones cromatográficas descritas, de los estándares de caseína bovina. Cabe hacer notar, que en los mismos aparecen picos en la zona de la β -caseína que se debe a la contaminación de los estándares con esa fracción. Los tiempos de retención obtenidos y la forma de la curva de los estándares bovinos coinciden con los cromatogramas obtenidos en diferentes trabajos (Velooso et al., 2002, 2004; Bobe et al., 1998).

Se observó que el análisis mediante HPLC-UV en fase reversa en muestras de queso de cabra, bajo las condiciones cromatográficas utilizadas, proporcionó una buena separación de las fracciones de caseínas. Los tiempos de retención de las fracciones mayoritarias de caseínas obtenidas a partir de muestras de queso de cabra coinciden con los tiempos de retención de las fracciones de caseínas estándar (Fig. V.1d).

También se presenta el perfil cromatográfico de una corrida de blanco (inyección de 20 μ l de fase móvil A: fase móvil B – 70:30) (Fig. V.1e). En este último cromatograma se ve un aumento de la línea de base al final del tiempo de corrida, que se repite durante todos los cromatogramas en este trabajo. Este hecho se debe probablemente a la elución de pequeñas cantidades de TFA que se adsorbió a la fase estacionaria en el disolvente polar. Un similar comportamiento fue encontrado por Elgar et al. (2000) en un estudio de las proteínas mayoritarias en suero bovino, por Velooso et al. (2002) en un estudio de las fracciones mayoritarias de caseína en leche bovina, ovina y caprina y por Ferreira et al. (2006) cuando estudiaron la degradación de las caseínas en queso ovino.



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

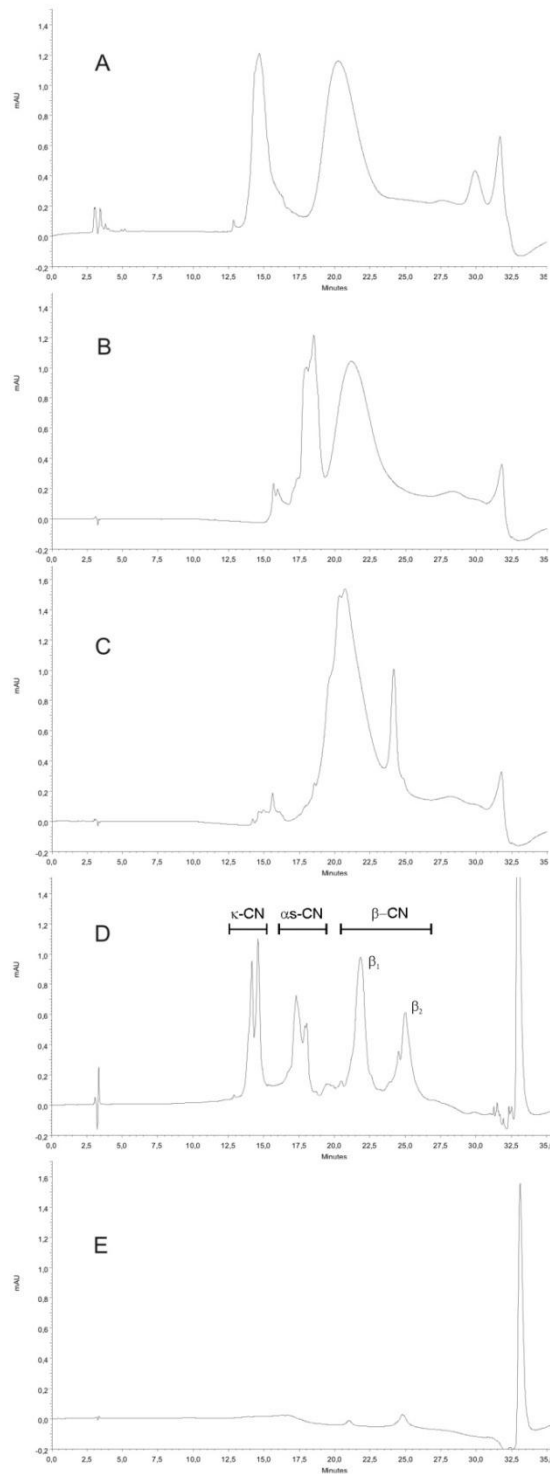


Figura V.1. RP-HPLC cromatogramas. a) κ -caseína; b) α -caseína; c) β -caseína; d) caseína caprina; e) fase móvil

Debido a que no se encuentran disponibles comercialmente las caseínas α_{s1} y α_{s2} como proteínas aisladas, se asumió la conocida proporción 4:1 en la caseína estándar bovina (Jauber and Martin, 1992). Para confirmar el pico correspondiente a cada variante y sabiendo que en las caseínas de cabra la proporción de la variante α_{s2} es el doble que la α_{s1} (Jauber and Martin, 1992), se

realizaron tres extracciones de la misma muestra de queso de cabra con el agregado de diferentes cantidades de estándar de alfa caseína bovina. Como se pudo observar en los cromatogramas (en la Figura V.2 se muestra uno de ellos), el área de pico correspondiente a la fracción identificada como α_{s1} crece en todos los casos.

De estas observaciones se puede afirmar que las fracciones de caseínas eluyen en el orden: κ -caseína (para κ -caseína), α_{s2} -caseína, α_{s1} -caseína y β -caseína. Además, se calcularon las cantidades relativas de cada fracción de caseína en función del área de pico y el área total del cromatograma como la suma de todas las áreas. Para la β -caseína se sumaron las áreas de los dos picos más grandes. Las proporciones encontradas fueron para κ -caseína: 37 % \pm 1 %, α_{s2} -caseína: 8 % \pm 1 %, α_{s1} -caseína: 3,6 % \pm 0,5 % y β -caseína: 51 % \pm 2 %. El valor de para κ -caseína encontrado es superior a los valores de bibliografía publicados para esa fracción en leche de cabra y el valor de α_{s1} -caseína es levemente inferior, las otras fracciones proteicas poseen valores consistentes con las cantidades relativas conocidas de las fracciones de caseínas en leche de cabra (Clark and Sherbon, 2000). Debido a la alta proporción de β -caseína, las leches de cabra son consideradas como ricas en esta fracción (Assenat, 1985; Remeuf and Lenoir, 1986; Jenness, 1980).

En el cromatograma de caseína de queso de cabra pueden verse dos picos en la zona de la para κ -caseína y múltiples picos en la β -caseína con preponderancia de dos picos de mayor área. La κ -caseína (κ -CN) eluida en dos picos distintos puede deberse a la forma glicosilada y no-glicosilada de la para κ -CN (Bobe et al., 1998). Di Luccia et al. (1990) y Jauber y Martin (1992) también han encontrado dos picos en la zona de la para κ -caseína pero ellos sugieren que se puede deber a dos variantes genéticas de la para κ -caseína (A y B), sugiriendo la existencia de un polimorfismo genético en esa fracción. Los diferentes picos en la zona de la β -caseína se pueden deber a las distintas variantes genéticas de esta proteína (Saldo et al., 2002). Richardson y Creamer (1974) aislaron dos β -caseínas que representan a las más prominentes bandas electroforéticas en la caseína de cabra. Estas tenían idénticas composiciones de aminoácidos y diferían sólo en tener cinco y seis grupos fosfato, respectivamente. Los autores llaman a estos componentes β_1 - y β_2 -caseínas. En este trabajo también se identificaron dos grandes picos que pueden corresponderse con las β_1 - y β_2 -caseínas, siendo la β_1 -caseína la fracción proteica que tiene el menor tiempo de retención y la β_2 -caseína la de mayor tiempo de retención.

V.4.2. Estudio de precisión y linealidad

La linealidad del método fue comprobada a través de las curvas de calibrado realizadas con estándares bovinos para cada fracción de caseína y se obtuvieron por regresión lineal de las áreas de los picos respectivas (picos identificados en la figura V.1a-c) en función de la concentración de cada fracción en la solución inyectada. El coeficiente de correlación fue mayor a 0,986 para las fracciones de caseínas estudiadas, indicando una relación fuerte entre las variables. Se realizó una prueba de hipótesis para la verificación de que el intercepto pasa por cero. Los P-valor obtenidos fueron mayores que 0,05, por lo que no se puede rechazar la hipótesis de que el intercepto es igual a 0,0 con un nivel de confianza del 95,0%.



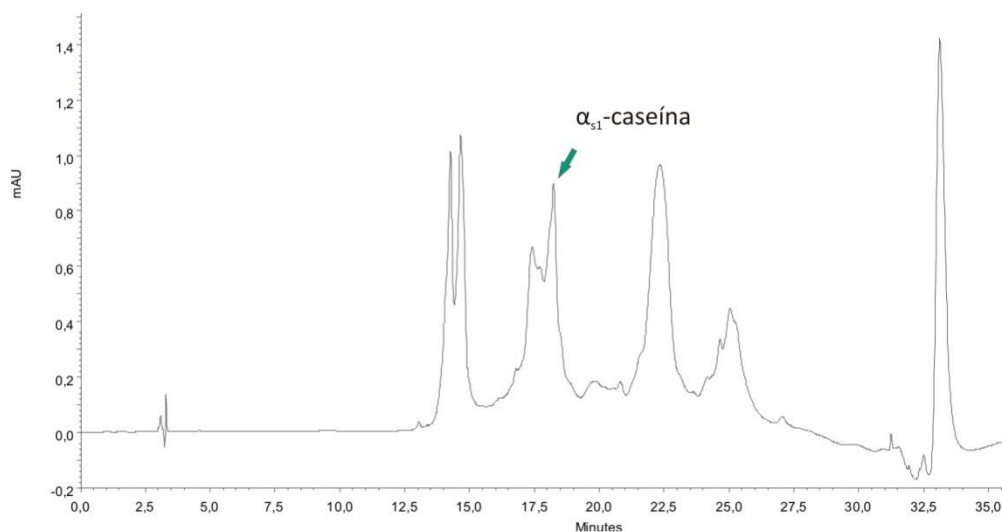
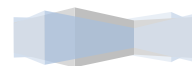


Figura V.2. Cromatograma de caseína de cabra con el agregado de 256 μg de estándar de α -caseína bovina

La precisión del método fue evaluada teniendo en cuenta su repetitividad y reproducibilidad. Para ello se calcularon los coeficientes de variación (CV) para los tiempos de retención y áreas de los picos para los análisis realizados en un mismo día (repetitividad) y los realizados con semanas de diferencia (reproducibilidad), según lo expresado en materiales y métodos. En todos los casos se verificaron los valores para el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada, las cuales pueden utilizarse para determinar si la muestra proviene de una distribución normal. Para todas las pruebas realizadas, los valores de los estadísticos se encuentran dentro del rango esperado para datos provenientes de una distribución normal.

V.4.2.1. REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO

En la Tabla V.1 se muestran los resultados obtenidos para los valores del coeficiente de variación (CV) para el tiempo de retención y el área de pico. Los valores del CV obtenidos para el tiempo de retención de las cinco fracciones estudiadas fueron \leq a 0,95% dentro de un mismo día de trabajo y \leq a 1,41% entre días de trabajo. Los CV para las áreas de pico fueron \leq a 3,49% dentro de un mismo día de trabajo y \leq a 7,63% entre días de trabajo. Los valores son similares a los reportados en la bibliografía para la variación en un mismo día de trabajo (Bobe et al., 1998; Collin et al., 1991; Ferreira et al., 2001; Parris and Baginski, 1991; Cifuentes et al., 1993; de Jong et al., 1993; Groen et al., 1994; Franzen et al., 1995; Kinghorn et al., 1995; Veloso et al., 2002, Montalbano et



**V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA.
EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA**

Tabla V.1. Repetitividad y Reproducibilidad del método analítico expresado en función del Coeficiente de Variación (CV)

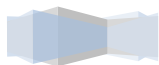
Repetitividad									
Para K- caseína		Alfa s2-caseína		Alfa s1- caseína		Beta 1 caseína		Beta 2- caseína	
Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico
0,95 %	1,15%	0,12 %	1,18%	0,14 %	3,38%	0,27%	3,49%	0,07 %	1,59%

Reproducibilidad									
Para K- caseína		Alfa s2-caseína		Alfa s1- caseína		Beta 1 caseína		Beta 2- caseína	
Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico
0,27 %	3,22%	0,31 %	3,19%	0,38 %	2,91%	1,41%	5,88%	0,13 %	7,63%

Tabla V.2. Repetitividad y Reproducibilidad del método de extracción expresado en función del Coeficiente de Variación (CV)

Repetitividad									
Para K- caseína		Alfa s2-caseína		Alfa s1- caseína		Beta 1 caseína		Beta 2- caseína	
Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico
0,25 %	5,33%	0,34 %	5,12%	0,22 %	4,08%	1,00%	4,76%	0,80 %	4,17%

Reproducibilidad									
Para K- caseína		Alfa s2-caseína		Alfa s1- caseína		Beta 1 caseína		Beta 2- caseína	
Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico	Tiempo de retención	Área de pico
0,75 %	5,07%	1,09 %	5,23%	1,40 %	4,80%	1,56%	8,49%	0,65 %	1,16%



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

al., 2014) y para la variación entre días (Bobe et al., 1998; Resmini et al., 1989; Cifuentes et al., 1993; Veloso et al., 2002, Montalbano et al., 2014). Por los resultados obtenidos, este método es adecuado para separar e identificar caseínas de muestras de queso de cabra con buena precisión y en un tiempo de análisis corto.

V.4.2.2. REPETITIVIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

En la Tabla V.2 se muestran los valores de repetitividad y reproducibilidad, expresados como coeficientes de variación (CV). Los valores del CV obtenidos para el tiempo de retención de las dos fracciones estudiadas fueron $\leq 1,00\%$ dentro de un mismo día de trabajo y $\leq 1,56\%$ entre días de trabajo. Los CV para las áreas de pico fueron $\leq 5,33\%$ dentro de un mismo día de trabajo y $\leq 8,49\%$ entre días de trabajo. Estos valores están de acuerdo con lo expresado por Huber (1998).

V.4.3. Variaciones de fracciones proteicas en cuajadas

Según el mes y año de elaboración se encontraron grandes variaciones en las áreas de los cromatogramas de las distintas fracciones de caseínas en las cuajadas previo al salado. Esto puede verse en la Figura V.3 y en la Tabla V.3.

Tabla V.3. Comparación de muestras de cuajadas en función del momento de elaboración

	<i>Elaboración</i>	<i>N</i>	<i>Promedio (Áreas)</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
para κ-caseína	Marzo	8	30×10^6	2×10^6	6,66 %	28×10^6	32×10^6
	Noviembre	8	28×10^6	2×10^6	7,14 %	26×10^6	30×10^6
α_{s2}-caseína	Marzo	8	7×10^6	$0,2 \times 10^6$	2,86 %	$6,8 \times 10^6$	$7,2 \times 10^6$
	Noviembre	8	4×10^6	1×10^6	25,00 %	3×10^6	5×10^6
α_{s1}-caseína	Marzo	8	$2,4 \times 10^6$	2×10^6	83,33 %	$0,4 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$
	Noviembre	8	$0,6 \times 10^6$	$0,3 \times 10^6$	50,00 %	$0,3 \times 10^6$	$0,9 \times 10^6$
β_1-caseína	Marzo	8	28×10^6	4×10^6	14,29 %	24×10^6	32×10^6
	Noviembre	8	32×10^6	3×10^6	9,37 %	29×10^6	35×10^6
β_2-caseína	Marzo	8	11×10^6	1×10^6	9,09 %	10×10^6	12×10^6
	Noviembre	8	7×10^6	3×10^6	42,86 %	4×10^6	10×10^6

De la Tabla V.3 y la Figura V.3 puede verse que las áreas y por lo tanto las concentraciones de la para κ -caseína y de la β_1 -caseína son las fracciones más constantes ya que poseen valores intermedios del coeficiente de variación dentro del mismo mes para años diferentes como así también se encontró que entre los dos meses estudiados tienen valores máximos y mínimos que se solapan.



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

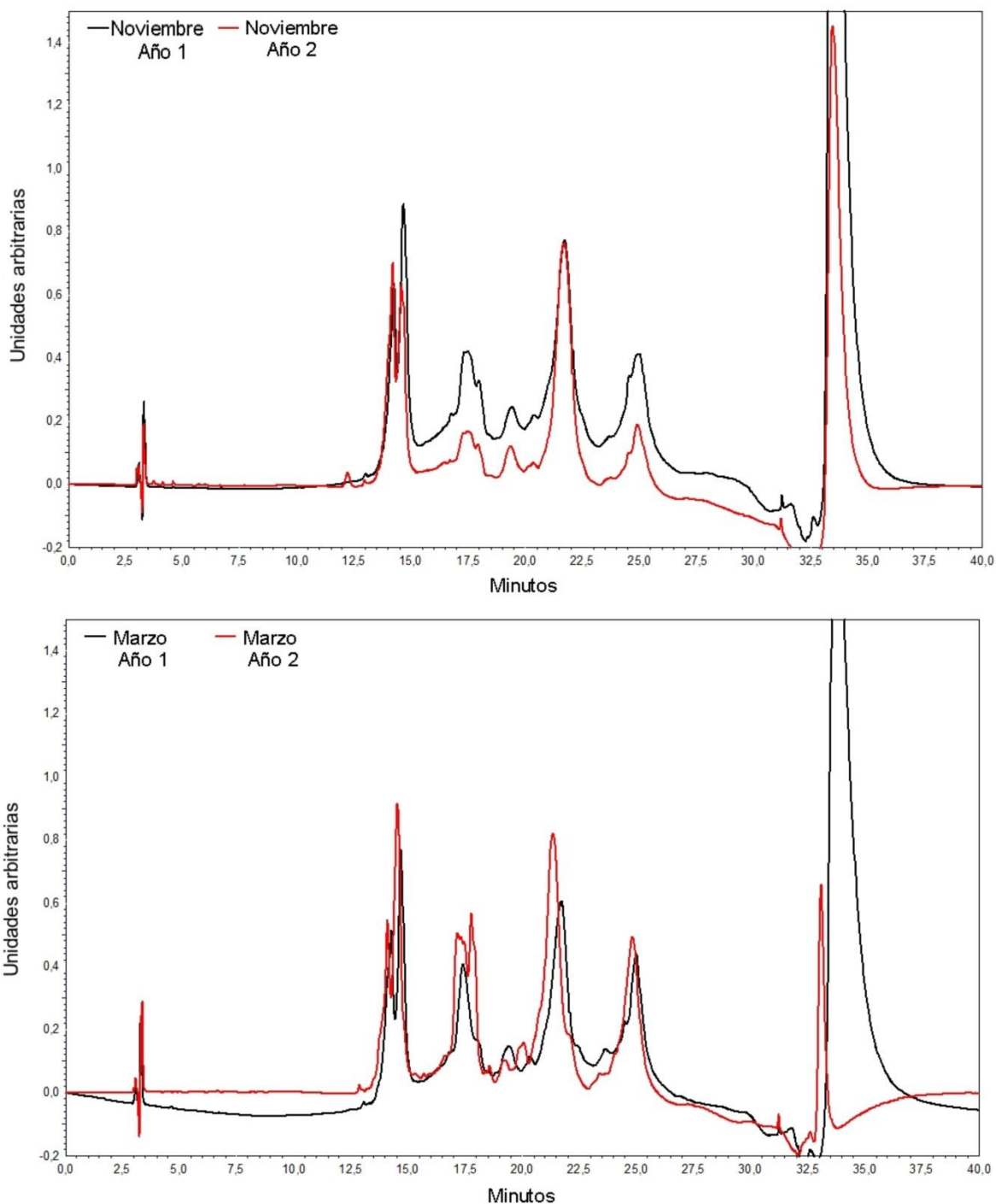
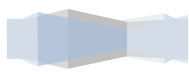


Figura V.3. RP-HPLC cromatogramas. Muestras de cuajada de elaboraciones de los meses de Marzo y Noviembre de años consecutivos.



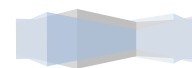
V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

La fracción de caseína que mayor variación mostró fue la α_{s1} -caseína tanto para el mismo mes de elaboración como entre los meses, obteniéndose en el mes de Noviembre la menor concentración para esta fracción. Mora-Gutiérrez et al. (1991) examinaron la leche de 25 cabras de raza Alpine y Nubia y no vieron diferencias entre las razas en la cantidad de α_{s1} -CN, pero vieron una gran variabilidad dentro de las razas, lo que sugiere la regulación genética de la proteína. Esto puede explicar la alta variabilidad encontrada en este trabajo para las cuajadas elaboradas a partir de leche del mismo hato caprino. En efecto, excepcionalmente se encontró para una elaboración en el mes de Marzo una proporción normal según bibliografía (Clark and Sherbon, 2000) de la fracción α_{s1} -caseína ($5,3 \pm 0,1$), expresada como porcentaje del área de la fracción respecto al área total, mientras que en las otras tres elaboraciones (dos del mes de Noviembre y otra del mes de Marzo del año siguiente) se encontraron unas muy bajas proporciones de esta fracción proteica ($0,9 \% \pm 0,3\%$). Se ha demostrado que el polimorfismo genético de las proteínas de la leche es responsable de cambios en la composición de la leche y de influir en sus propiedades tecnológicas (Grosclaude, 1988). Estas consideraciones también se aplican a la leche de cabra, en donde se observa variabilidad, tanto cualitativa como cuantitativa, especialmente para α_{s1} -caseína (Grosclaude et al, 1987). De hecho, estas proteínas se corresponden, a nivel de gen, a un mínimo de 9 alelos diferentes en el locus α_{s1} -caseína, designados A, B, C, D, E, F, F', O y un O' (Leroux et al, 1990). Los alelos O y O' parecen ser alelos nulos; leche de cabras O/O, O/O' y O'/O' en el locus α_{s1} -caseína contienen muy pequeña, si alguna, cantidades de α_{s1} -caseína (Jaubert y Martín, 1992). Por los resultados obtenidos podemos decir que el hato caprino con el que se trabajó en este estudio posee, en general, cabras con leche de baja concentración de α_{s1} -CN.

El menor coeficiente de variación encontrado fue para la fracción α_{s2} -caseína en el mes de Marzo, siendo a la vez el período de mayor concentración de esta fracción.

La fracción β_2 -caseína mostró un coeficiente de variación intermedio para las cuajadas del mes de Marzo siendo a la vez el mes de mayor concentración de esta fracción y una alta variabilidad para el mes de Noviembre con la menor concentración.

Las diferencias en la composición de proteínas en las cuajadas se deben a la variación de las proteínas en la leche y también han sido reportadas por diferentes investigadores. La composición de la leche de los rumiantes está influenciada por la raza, la edad, la etapa de lactancia, el número de lactancia, mes de toma de muestras, la nutrición y otros factores ambientales y genéticos (Storry et al., 1983; Politis y Ng-Kwai-Hang, 1988; Aleandri et al., 1990; Clark, 1993; McLean et al., 1984; Ng- Kwai Hang et al., 1987). Si bien no todos estos factores pueden ser conocidos o pueden ser controlados por los criadores, la selección apropiada de cabras lecheras sobre la base de raza o de composición de la leche debe servir para mejorar la capacidad quesera de la leche de cabra.



V.4.4. Variaciones de las fracciones de caseínas durante la maduración

Se realizaron corridas cromatográficas de 112 muestras de caseínas de queso de cabra con el fin de establecer la influencia del método de salado en la variación de las fracciones proteicas durante el proceso de maduración de los quesos. Debido a la alta variabilidad inicial de las fracciones de caseínas en las muestras iniciales de cuajada se realizó un Análisis de Covarianza Multifactorial para los factores Método de salado y Tiempo de maduración, considerando el área de cada muestra inicial de cuajada como covariable, de manera de reducir el ruido producido por la alta heterogeneidad de esta variable. La influencia de los factores y la covariable sobre el área de las distintas fracciones de caseínas estudiadas se muestra en la Tabla V.4.

Tabla V.4. P-valor obtenido del análisis de covarianza para las áreas de las fracciones de caseínas estudiadas

Fuente de Variación	para k-caseína	α_{s2} -caseína	α_{s1} -caseína	β_1 -caseína	β_2 -caseína
COVARIABLE					
Area inicial cuajada	0,0000*	0,0069*	0,0007*	0,0147*	0,0000*
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Método de Salado	0,8574	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0030*
B: Tiempo de Maduración	0,0004*	0,0006*	0,0000*	0,0000*	0,1494
INTERACCIONES					
AB	0,2573	0,2031	0,0000*	0,0000*	0,0040*

* Indica diferencia significativa ($\alpha=0,05$)

Para poder discriminar dentro del mismo método de salado las diferencias significativas entre los valores de las áreas para los distintos tiempos de maduración, se realizó un Análisis de la Varianza Simple considerando al Tiempo de maduración como factor. En los casos que el tiempo de maduración resultó significativo se realizó un test de Tukey para discriminar entre las medias con un 95 % de confianza. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla V.5. Esto fue posible porque los datos obtenidos para cada tiempo de maduración presentaron una distribución normal ($P > 0,05$; prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas ($P > 0,05$; prueba de Levene).

Varias consideraciones surgen de la Tabla V.4, la Tabla V.5 y de la representación gráfica de la interacción de los factores estudiados sobre el área de las diferentes fracciones de caseínas ilustradas en la Figura V.4.

Para la para k-caseína (Figura V.4.a) podemos ver una disminución progresiva del área para el salado en masa aunque sin diferencia significativa y para el salado superficial se encontró un grupo homogéneo hasta el día 7 de maduración y otro grupo homogéneo desde el día 14 al día 28 de maduración (Tabla V.5). Se encontró (en el ANCOVA) efecto significativo de la covariable debido a

V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

la heterogeneidad de las áreas iniciales y del tiempo de maduración pero sin diferencia significativa para el método de salado y la interacción de los factores (Tabla V.4). Por lo tanto para ambos métodos de salado el comportamiento de la fracción de para k-caseína durante el tiempo de maduración estudiado es similar. Estas variaciones se pueden ver en los cromatogramas de muestras de queso salados por los dos métodos estudiados para el primer tiempo de maduración evaluado y para el día 28 de maduración (Figura V.5).

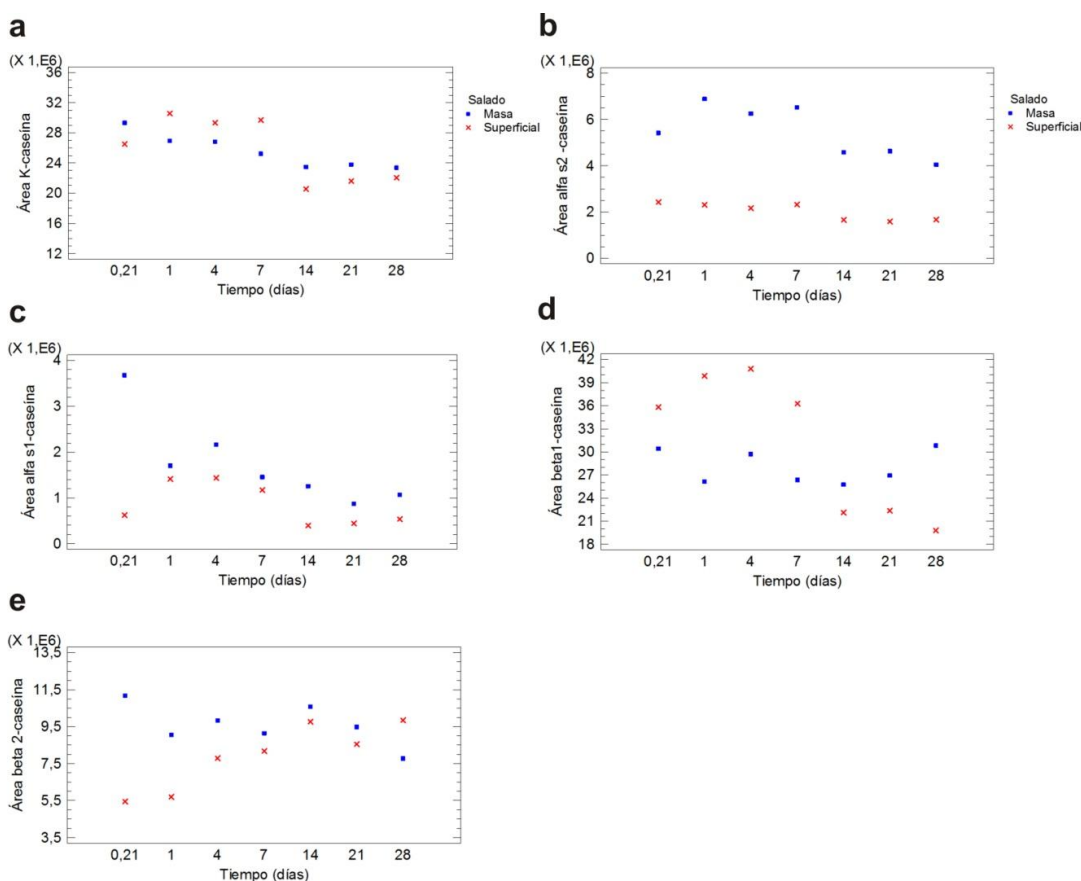


Figura V.4. Variación de las áreas de las distintas fracciones de caseínas en queso de cabra en función del tiempo de maduración. Puntos azules: quesos salado en masa. Puntos rojos: quesos salado superficial. a. κ-caseína, b. α_{s2}-caseína, c. α_{s1}-caseína, d. β₁-caseína, e. β₂-caseína.

Se observó una reducción promedio de 18,55% para los fragmentos de para κ-CN, Ferreira et al. (2006) encontraron para esta fracción una pérdida promedio del 40% cuando estudiaron la degradación de caseínas en queso Terrino (queso de oveja); esta fracción se piensa que es muy resistente a impulsar la proteólisis después de la coagulación de la leche (Ferreira et al., 2006). Sin embargo se aislaron péptidos de κ-CN en queso Feta y su formación podría ser el resultado de la acción de una proteinasa lactococcal en el enlace Met95-Ala96, que exhibe las características necesarias de un sitio de escisión para una enzima como esa (Reid et al., 1991; Michaelidou et al., 1998).



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA.
EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Tabla V.5. Contraste Múltiple de Medias aplicando el Procedimiento de diferencia altamente significativa de Tukey (HSD) (95% de confianza) para el valor medio del área de las fracciones de caseínas de las muestras estudiadas.

		0,21 día	1 día	4 días	7 días	14 días	21 días	28 días	
Método de salado	Fracción caseína	Media (área de pico normalizada)	Media (área de pico normalizada)	Media (área de pico normalizada)	Media (área de pico normalizada)	Media (área de pico normalizada)	Media (área de pico normalizada)	Media (área de pico normalizada)	Pérdida (%)
En masa	para k-caseína	$2,95 \times 10^{7A}$	$2,71 \times 10^{7A}$	$2,70 \times 10^{7A}$	$2,54 \times 10^{7A}$	$2,37 \times 10^{7A}$	$2,40 \times 10^{7A}$	$2,36 \times 10^{7A}$	20,00
Superficial		$2,63 \times 10^{7A,B,C}$	$3,03 \times 10^{7C}$	$2,91 \times 10^{7B,C}$	$2,95 \times 10^{7C}$	$2,03 \times 10^{7A}$	$2,14 \times 10^{7A}$	$2,18 \times 10^{7A,B}$	17,11
En masa	α_{s2} -caseína	$5,29 \times 10^{6A,B}$	$6,76 \times 10^{6B}$	$6,13 \times 10^{6A,B}$	$6,39 \times 10^{6A,B}$	$4,44 \times 10^{6A,B}$	$4,50 \times 10^{6A,B}$	$3,92 \times 10^{6A}$	25,90
Superficial		$2,57 \times 10^{6A}$	$2,45 \times 10^{6A}$	$2,31 \times 10^{6A}$	$2,46 \times 10^{6A}$	$1,79 \times 10^{6A}$	$1,73 \times 10^{6A}$	$1,81 \times 10^{6A}$	29,57
En masa	α_{s1} -caseína	$35,13 \times 10^{5C}$	$15,39 \times 10^{5A,B}$	$20,06 \times 10^{5B}$	$12,98 \times 10^{5A,B}$	$10,99 \times 10^{5A,B}$	$7,09 \times 10^{5A}$	$9,06 \times 10^{5A,B}$	74,21
Superficial		$7,86 \times 10^{5A,B}$	$15,72 \times 10^{5C}$	$15,91 \times 10^{5C}$	$13,26 \times 10^{5B,C}$	$5,47 \times 10^{5A}$	$6,05 \times 10^{5A}$	$6,93 \times 10^{5A}$	11,83
En masa	β_1 -caseína	$3,05 \times 10^{7C}$	$2,63 \times 10^{7A}$	$2,98 \times 10^{7B,C}$	$2,65 \times 10^{7A}$	$2,58 \times 10^{7A}$	$2,70 \times 10^{7A,B}$	$3,10 \times 10^{7C}$	1,64
Superficial		$3,57 \times 10^{7B}$	$3,97 \times 10^{7B}$	$4,07 \times 10^{7B}$	$3,61 \times 10^{7B}$	$2,20 \times 10^{7A}$	$2,22 \times 10^{7A}$	$1,97 \times 10^{7A}$	44,82
En masa	β_2 -caseína	$11,18 \times 10^{6B}$	$9,06 \times 10^{6A,B}$	$9,83 \times 10^{6A,B}$	$9,15 \times 10^{6A,B}$	$10,57 \times 10^{6A,B}$	$9,48 \times 10^{6A,B}$	$7,77 \times 10^{6A}$	30,50
Superficial		$5,43 \times 10^{6A}$	$5,69 \times 10^{6A}$	$7,80 \times 10^{6A}$	$8,17 \times 10^{6A}$	$9,77 \times 10^{6A}$	$8,55 \times 10^{6A}$	$9,85 \times 10^{6A}$	--

^{A, B, C} Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadísticamente significativa (95% de confianza) ;

n = 8 para los valores medios de las áreas

Pérdida: - [(área final – área inicial)/área inicial] *100



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

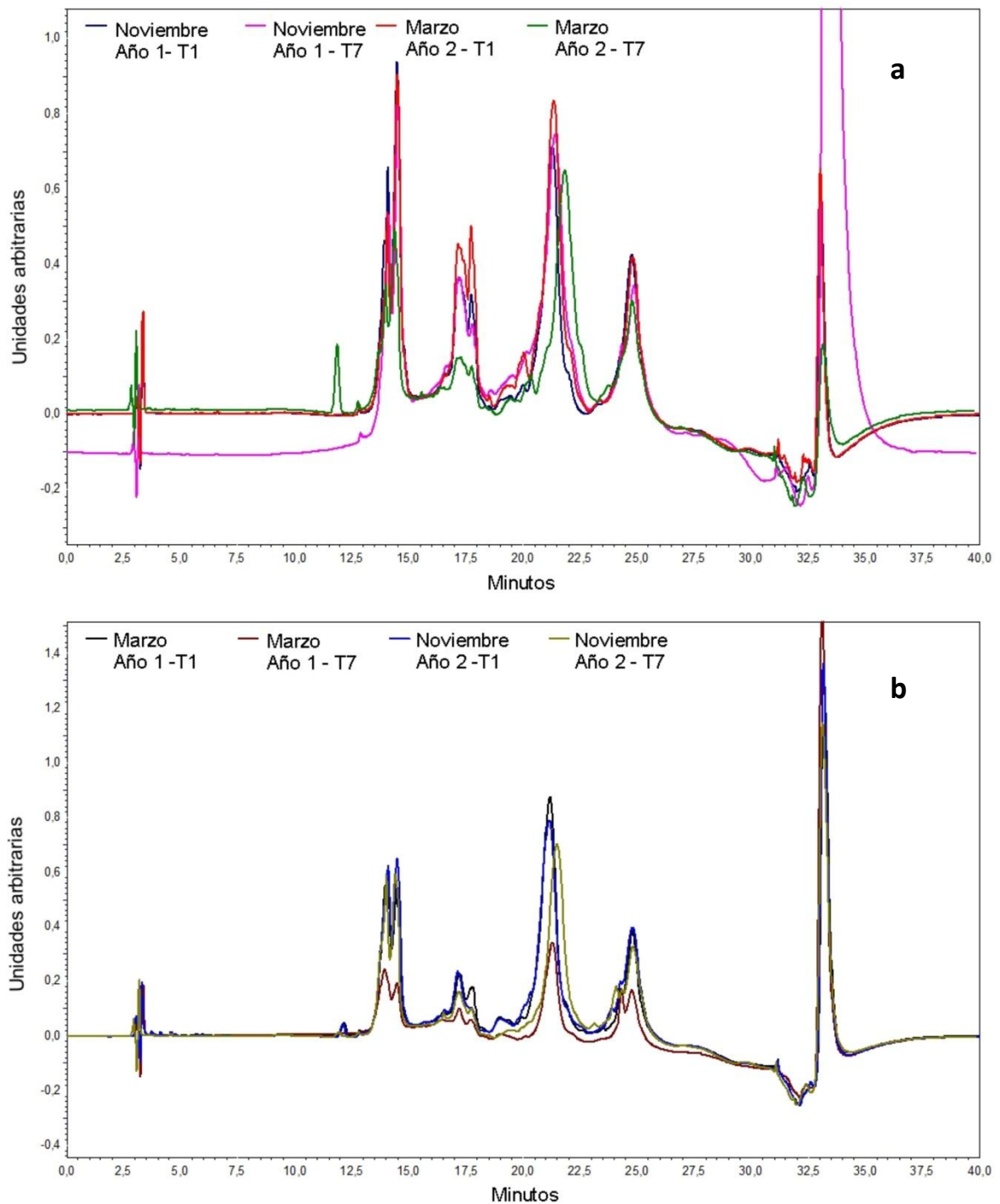
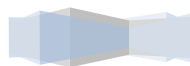


Figura V.5. Cromatogramas de caseínas de quesos de cabra. T1: tiempo de maduración de 5 horas. T7: tiempo de maduración 28 días. a. Quesos salado en masa. b. Quesos salado superficial.

Para la α_{s2} - caseína se encontró que tanto la covariable como los dos factores estudiados son significativos para el área de los picos, no así la interacción de los dos factores (Tabla V.4). Este resultado es esperado debido a la diferencia de las áreas iniciales de las cuajadas (Tabla V.3) lo que ocasiona una diferencia inicial muy importante para ambos métodos de salados estudiados (Fig. V.4.b). Si bien se obtiene efecto significativo para el método de salado, este resultado es

atribuible a las diferencias en las áreas de las cuajadas. Se puede ver en la Figura V.4b que el comportamiento de las áreas en función del tiempo de maduración es similar para ambos métodos, por lo que la interacción de ambos factores no es significativo. Se puede ver en ambas curvas una disminución de las áreas a partir del día 14 de maduración, más pronunciada en el salado en masa que en el salado superficial. Aunque solamente se encontró diferencia significativa para el salado en masa entre el día 1 y el día 28 de maduración y para el salado superficial el tiempo de maduración resultó no significativo (Tabla V.5). Estas variaciones se pueden ver en los cromatogramas de muestras de queso salados por diferentes métodos para el primer tiempo de maduración estudiado y para el día 28 de maduración (Figura V.5). Pino et al (2009) cuando estudiaron el efecto de dos tipos de coagulantes en quesos de cabra encontraron que los niveles de α_s -caseínas cayeron entre el día 2 y 15 de maduración para los dos tipos de coagulante, disminuyendo ligeramente a partir de entonces. Tejada et al. (2008) quienes también estudiaron el efecto del coagulante sobre la proteólisis, informaron que después de 15 días de maduración los niveles de α_s -caseínas y β -caseínas fueron significativamente menores en quesos elaborados con coagulante vegetal. En estos quesos, la degradación de α_s -caseínas durante la maduración fue más intensa que en los quesos fabricados con cuajo bovino (59,5% y 40,2%, respectivamente), mientras que la hidrólisis de β -caseína fue muy similar en ambos casos.

Para la fracción α_{s1} se encontró una gran diferencia en el área para los dos métodos de salado para el primer tiempo de maduración estudiado (Figura V.4c) lo que está relacionado a la gran variabilidad encontrada en esta fracción para las cuajadas (Tabla V.3), por lo tanto se encontró en el análisis ANCOVA (Tabla V.4) efecto significativo tanto en la covariable como en los factores estudiados y su interacción. Para el salado en masa se encontró un área inicial mucho mayor que para el salado superficial con una disminución del área al día de maduración lo que llevó a obtener valores similares para los dos métodos de salado para el primer día de maduración. A partir de este momento el comportamiento de la α_{s1} -caseína es similar para ambos métodos de salado. Se encontró diferencia estadísticamente significativa para el salado en masa entre el primer tiempo estudiado y los demás valores del área y entre el día 4 y el día 21 de maduración, siendo en este tiempo que se encontró el área mínima (Tabla V.5). La disminución pronunciada del área entre las 5 horas y el día de maduración puede deberse a que el cuajo tiene una gran influencia en la proteólisis de la fracción α_{s1} -caseína. Se sabe que tanto las β -CN y α_s -CN son susceptibles a la acción de la quimosina, sin embargo la quimosina en solución hidroliza α_s -CN en mayor proporción que β -CN (Bontinis et al., 2012). En efecto Fox y McSweeney (2004) sostienen que el coagulante residual en la cuajada causa la degradación de las caseínas con una acción específica sobre las α -caseínas y una acción menos extensa en las β -caseínas. Esta diferencia inicial y la acción del cuajo sobre la fracción de alfa caseína en los quesos que la poseen mayoritariamente, llevó a encontrar una influencia significativa de la interacción de los factores estudiados en el área de esta fracción. Para el salado superficial se encontraron áreas pequeñas a las 5 horas de maduración y sin diferencia significativa con los últimos tiempos de maduración estudiados. Para los tiempos intermedios, 1, 4 y 7 días, se encontraron valores de áreas sin diferencia significativa y mayores con respecto a los valores iniciales y finales (Tabla V.5). Estas variaciones se pueden ver en los cromatogramas de muestras de queso salados por diferentes métodos para el primer tiempo de maduración estudiado y para el día 28 de maduración (Figura V.5).



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

El análisis de covarianza (Tabla V.4) mostró que tanto la covariable como los factores estudiados y sus interacciones resultaron significativos para la fracción β_1 -caseína. En la Figura V.3 podemos ver diferencia en los valores iniciales de las áreas para las cuajadas, lo que nos lleva a tener un efecto significativo de la covariable (área inicial cuajada). En el salado en masa observamos aumento y disminuciones del área durante el período de maduración estudiado lo que nos lleva a obtener dos grupos homogéneos, uno conformado por los días 0, 21, 4 y 28 y otro por los días 1, 7, 14 y 21 días. Ferreira et al. (2006) también observaron oscilaciones en el área de β_1 -CN y β_2 -CN, pero sin una tendencia significativa a la disminución durante la maduración de queso Terrincho de oveja. En cambio, para el salado superficial podemos ver que hasta los 7 días permanece sin diferencia significativa entre los valores del área y que a los 14 días disminuye significativamente el área de esta fracción y se mantiene luego sin diferencia significativa hasta la finalización del estudio (Tabla V.5). Bontinis et al. (2012) también encontraron que la β -caseína era ligeramente degradada hasta los 22 días de maduración ($P < 0.05$) y luego se mantenía estable ($P > 0,05$) en quesos de cabras tradicionales Griegos. Pino et al. (2009) no observaron cambios importantes en el porcentaje relativo de las β -caseínas del día 2 en adelante, permaneciendo constante durante todo el período de 120 días de maduración en quesos de cabras elaborados con coagulante de origen vegetal o cuajo de ternero.

El comportamiento observado en el salado superficial lleva a obtener que el factor tiempo de maduración es significativo y las diferencias en la variación de las áreas para los dos métodos de salado conduce a que tanto el factor método de salado como la interacción método de salado - tiempo de maduración sea significativo. Estas variaciones se pueden ver en los cromatogramas de muestras de queso salados por diferentes métodos para el primer tiempo de maduración estudiado y para el día 28 de maduración (Figura V.5).

Para la fracción β_2 -caseína se encontró una alta variabilidad en las áreas iniciales de la cuajada (Tabla V.3) y eso se puede ver también en el gráfico de interacción del método de salado y tiempo de maduración (Figura V.4e) por lo tanto la covariable resultó significativa en el análisis ANCOVA (Tabla V.4). En la Figura V.4e, puede verse una tendencia decreciente en el área de la fracción para el salado en masa, lo que llevó a obtener diferencias significativas entre el primer tiempo de maduración estudiado (5 hs) y el último día de maduración estudiado, 28 días y una tendencia creciente del área para el salado superficial pero sin diferencia significativa para los tiempos de maduración estudiados (Tabla V.5). Este comportamiento antagónico de los dos métodos de salado resulta en que el factor tiempo de maduración no sea significativo y que tanto el método de salado como la interacción de los dos factores estudiados sea significativo. Estas variaciones se pueden ver en los cromatogramas de muestras de queso salados por diferentes métodos para el primer tiempo de maduración estudiado y para el día 28 de maduración (Figura V.5).

Se encontró una disminución global del área para la α_{s2} -caseína del 27,19%, valores mucho menores a los encontrados por Ferrerira et al. (2006) en queso Terrincho de oveja, donde la degradación de esta fracción en los 30 días de maduración fue del 75%, debida a la acción de la quimosina en esta fracción (Singh et al., 1994). Para la α_{s1} -caseína se encontró la mayor hidrólisis de todas las fracciones estudiadas (74,21%) en los quesos que contenían una alta proporción inicial de esta fracción (Figura V.5). En cambio, en los quesos con menor concentración inicial de esta fracción, la degradación fue mucho menor (11,83%) (Tabla V.5). Ferreira et al. (2006)

también observaron una reducción del 80% de α_{s1} -caseína durante 30 días de maduración en queso Terrincho de oveja. Esto lo explican debido a la acción residual del cuajo, junto con la acción de enzimas hidrolíticas de los microorganismos presentes en el queso. El sitio primario de acción de la quimosina en la α_{s1} -caseína es el vínculo Phe23-Val24, con la aparición del péptido α_{s1-1} producto de la degradación; este péptido sufre luego futuras hidrólisis (Michaelidou et al., 1998; Irigoyen et al., 2000; Prieto et al., 2004). Esta variación en la degradación α_s -caseínas también fue encontrada por Hayaloglu et al. (2013) en queso artesanal de cabra y lo explican diciendo que probablemente se deba a las condiciones de fabricación y de maduración en los diferentes centros de producción analizados. Por lo que el método de salado, así como el fermento utilizado y la concentración inicial de las fracciones caseínicas, entre otros factores, son posiblemente los responsables de la variación en la degradación de la fracción α_s -caseína. Para poder determinar exclusivamente la influencia del método de salado es necesario por lo tanto, controlar precisamente los demás factores de manera de neutralizar la influencia de éstos.

Güven et al. (2006) encontraron que las α_{s1} -caseínas fueron extensamente degradadas durante la maduración de queso de vaca tradicional de Turquía, sometidos a 4 diferentes concentraciones de salmuera durante el salado; sin embargo no encontraron diferencia significativa entre los 4 tratamientos. O sea que la degradación de la α_{s1} -caseína no se encuentra influenciada por la concentración de sal en ninguna etapa del proceso de maduración estudiado. Esto concuerda con lo encontrado por Kristiansen et al. (1999) que reportan que la diferencia en el nivel de concentración de sal no afecta la degradación de la caseína α_{s1} en la maduración de quesos tipo Danbo. Cabe recordar que la leche de vaca es más rica en α_{s1} que la leche de cabra (36-40% versus 4-26%) por lo que la disponibilidad inicial de esta fracción es mucho mayor en los quesos de vaca (Clark y Sherbon, 2000). En los quesos de cabra en los que encontramos una concentración inicial alta de α_{s1} -caseína también ésta fue extensamente degradada, sin tener influencia el método de salado utilizado ya que para el mismo método de salado pero con concentración inicial mucho menor de esta fracción, la degradación fue mucho menor también (Figura V.5a).

Para la fracción β_1 -caseína se encontró una disminución significativa (44,82%) para el salado superficial mientras que en el salado en masa se encontró una muy poca degradación (1,64%) (Tabla V.5). Para el caso de la fracción β_2 -caseína, encontramos diferencia significativa recién en el día 28 de maduración para el salado en masa, con una pérdida del área de aproximadamente el 30% y para el salado superficial un aumento del área de los picos. En algunas variedades de queso la β -CN es bastante resistente a la proteólisis durante todo el período de maduración (McSweeney, 2004). Veloso et al. (2004) sólo observaron una pequeña disminución de β -caseína durante 30 días de maduración en queso de oveja y quesos elaborados con mezcla de leche de vaca y oveja. Oliszewski et al. (2013) también encontraron que las β (β_1 y β_2)-caseínas se mantuvieron casi intactas durante la maduración de quesos de cabra de Argentina y sin influencia del starter autóctono utilizado. Pereira et al. (2008) también explican que la naturaleza más hidrófoba de la β -caseína comparada con la α_s -caseína puede promover la unión preferencial de la fracción β - a los glóbulos de grasa de la leche, lo que la protege de los ataques proteolíticos.

Por lo tanto, las fracciones que corresponden a la región de β -CN fueron en general, menos degradadas que aquellas que corresponden a la α_{s1} -CN y α_{s2} -CN, que se hidroliza más rápidamente durante las primeras etapas de maduración.

Otros autores también encontraron mayor degradación en α_s -caseínas que en β -caseína (Hayaloglu et al., 2013; Saldo et al., 2002, Franco et al., 2003 y Pino et al., 2009; Bontinis et al., 2012; Trujillo et al., 2002; Veloso et al., 2004; Pereira et al., 2008; Ferreira et al., 2006). Aparentemente la β -caseína es más resistente a la hidrólisis enzimática y esta tendencia se acentúa por el uso de NaCl, que fuertemente (a concentraciones del 5%) y casi completamente (al 10%) inhibe la hidrólisis de β -caseína por quimosina (Fox y McSweeney, 1996). En efecto, Guven et al. (2006) cuando estudiaron el efecto de la concentración de sal en la maduración de queso de vaca turco, encontraron que los porcentajes de β -caseína (evaluados por densitometría óptica de las bandas del electroforetograma) decrecen durante las 9 semanas de maduración evaluadas y, en general, sus valores son inversamente proporcionales a la concentración de sal. Por lo que un aumento en el contenido de sal se correlaciona con bajos contenidos de degradación de β -caseína. En el salado en masa, existe concentración de sal en el interior de la masa de los quesos desde los primeros tiempos de maduración lo que puede causar la inhibición de la quimosina. En el salado superficial el ingreso de NaCl desde el exterior es un proceso que lleva tiempo por lo que la quimosina tiene mayor posibilidades de actuar sin inhibirse por la concentración de sal (Capítulo III y IV), esto podría explicar los resultados encontrados.

Hayaloglu et al., 2013, cuando estudiaron la degradación proteica por UREA-Page en Gokceada (queso artesanal de cabra), encontraron que algunas bandas débiles aparecieron a principios de los geles y las relacionaron probablemente con γ -caseínas, que derivan de la degradación de β -caseína por la plasmina (McSweeney, 2004; Fox y McSweeney, 1996) pero considerable cantidad de β -caseína se mantuvo sin hidrolizar en muchas de las muestras. Estas variaciones fueron relacionadas con el nivel óptimo de pH de actividad de la plasmina, que está cerca de 7,5 (McSweeney, 2004; Fox y McSweeney, 1996). Esto puede explicar también los resultados encontrados en este trabajo respecto a la degradación de la fracción β_1 -caseína en los quesos salados seco superficial ya que los mismos tuvieron un pH final de 6 - 6,4 mientras que los quesos salados en masa tuvieron un pH final de 5,8. Además, Fernández (2004) encontró actividades más altas de la plasmina en quesos duros y que se incrementaba su actividad durante la maduración del queso Regianito Argentino. Por otro lado, encontró una correlación positiva entre la actividad de plasmina y el nivel de degradación de la β -caseína. Esto puede explicar que la degradación de la fracción β_1 -caseína en el salado superficial se manifieste significativamente a partir del día 14 de maduración donde los quesos han perdido una cantidad importante de agua (Capítulo III).

El aumento encontrado en la fracción β_2 -caseína en los quesos salados superficial puede deberse justamente a la aparición de las fracciones γ -caseínas que se observan en la corrida cromatográfica en forma de picos dobles en la zona de la β_2 -caseína y que aumentan por lo tanto el área de esta fracción (Figura V.5b). En efecto, bajo las condiciones estudiadas las γ -CNs co-eluyen con la β -CN como ha sido reportado previamente por otros métodos RP-HPLC que trabajaron con leche entera (Bobe et al., 1998; Parris et al., 1990; Strange et al., 1991; Groen et al., 1994; Jauber y Martín, 1992). Asumen el mismo coeficiente de absorción ya que las γ -CNs son un producto de la proteólisis de la β -CN. Pino et al. (2009) cuando estudiaron la influencia de dos tipos de coagulantes en la proteólisis de quesos de cabra, también observaron aumento en la intensidad de las bandas de γ -caseínas en ambos lotes de queso a lo largo de la maduración.



Los resultados anteriores indican que en el queso de cabra salado seco se produce una ligera degradación de las caseínas durante el período de maduración estudiado. La misma tendencia se encontró en otros quesos de cabra (Fresno et al., 1997; Franco et al., 2003; Pino et al., 2009; Oliszewski et al., 2013) o queso vaca (Franco et al., 2001). En los quesos salados seco superficial se encontró mayor degradación de la fracción β_1 -caseína que en el salado en masa, esto podría explicarse por los valores de pH menores (5,8), casi desde el comienzo del período de maduración, el menor contenido de humedad (39%) y la mayor relación de sal-en-humedad (6,4%) en los quesos salado por este método (Capítulo IV), factores que obstaculizan la actividad enzimática (Noomen, 1978; Kelly et al, 1996). Varios autores (Mulvihill y Fox, 1977, 1978; Visser y Slangen, 1977) mostraron en sistemas modelo que la degradación de caseína por cuajo se redujo, a valores de pH inferiores a 5,8. Por otro lado, las bacterias del ácido láctico, el grupo microbiano principal encontrado en el queso de cabra de la región noroeste de Argentina (Oliszewski et al., 2006; Taboada et al., 2014), tiene una ligera actividad en las caseínas intactas (Law et al., 1993) lo que también podría contribuir al bajo nivel de degradación en estos quesos durante la maduración. Se sabe que el contenido de sal y el método de salado afectan considerablemente la velocidad y/o extensión de la proteólisis, los altos niveles de sal se relacionan con un retraso en la proteólisis (Park, 2001). El nivel de humedad también tiene un efecto importante sobre la velocidad de proteólisis (Calvo et al., 2007). Así, tanto el mayor contenido de NaCl como la menor humedad de los quesos salados en masa podrían explicar la proteólisis primaria menor que se encuentra en los quesos salados por esta metodología.

V.5. CONCLUSIONES

El procedimiento descrito de RP-HPLC es adecuado para la rutina de separación e identificación de κ -, α - y β - caseína en queso de cabra. Este método fue capaz de separar las caseínas y permitió la cuantificación de las fracciones de caseínas, relativa a la caseína total en el queso de cabra.

Las fracciones de caseína de cabra se pueden identificar con el uso de patrones externos de caseínas bovinas. Se obtuvo una adecuada linealidad con coeficientes de correlación superiores a 0,98.

La precisión evaluada como repetitibilidad y reproducibilidad, tanto para el método analítico como para el método de extracción, reveló coeficientes de variación acordes con la bibliografía. Esta característica sumada a la rapidez del método, permiten afirmar que el método para la determinación por HPLC de fracciones de caseínas de cabra ha sido optimizado.

El método desarrollado en este trabajo puede ser aplicado para la separación e identificación de caseínas homólogas a las bovinas como son las caprinas y ovinas.

Los resultados mostraron que la metodología RP-HPLC se puede aplicar con éxito para evaluar la proteólisis primaria durante la maduración de quesos de cabra salados seco durante 28 días. Se observó que la α_{S1} -caseína es la fracción que se sometió a mayor proteólisis durante ese período, pero sólo en aquellos quesos cuya proporción inicial fue alrededor del 5% con respecto al total de caseína. La mayor degradación de esta fracción ocurre en el transcurso del primer día de



maduración. Las otras fracciones se mantuvieron con una baja degradación, salvo para la β_1 -caseína en los quesos salados superficial, en donde se encontró una degradación de casi el 45%.

Los datos presentados en este trabajo han contribuido a profundizar el conocimiento sobre la degradación de la caseína de queso de cabra salado en seco a lo largo de la maduración. En particular, la relación entre la composición de la caseína según sus fracciones mayoritarias, el mes de producción de la leche, el tiempo de maduración y el método de salado fueron abordados en este trabajo en una forma estadísticamente validada.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que los quesos de cabra salados en seco estudiados sufren una degradación de caseínas limitada durante la maduración, lo que conlleva a una proteólisis limitada también.

Debido a la variación encontrada por la concentración inicial de las fracciones de caseínas en la materia prima es necesario el control de esta variable para poder disminuir el ruido que proporciona para evaluar más eficientemente la influencia del método de salado. Además de esta variable pueden existir diferencias en la maduración debido a la microflora nativa que se desarrolla en el starter utilizado, por lo que estos factores deben ser controlados en futuros trabajos.

El conocimiento de los cambios sufridos por los quesos durante la maduración es de gran relevancia tecnológica, ya que puede conducir a la mejora de la calidad de los mismos. Por lo que el análisis de los perfiles proteolíticos por HPLC ha demostrado que es un método apropiado, certero y confiable para examinar el proceso bioquímico de la proteólisis.

V.6. BIBLIOGRAFIA

Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.) (2001). Validación de métodos analíticos. ISBN 84-89602-33-6. Barcelona, España.

Ausar, S.F., Bianco, I.D., Badini, R.G., Castagna, L.F., Modesti, N.M., Landa, C.A., Beltramo, D.M. (2001). Characterization of casein micelle precipitation by chitosans. *Journal of Dairy Science*, 84,361-369.

Aleandri, R.; Buttazzoni, L.G.; Schneider, J.C.; Caroli, A.; Davoli, R. (1990). The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese-producing ability. *Journal of Dairy Science*, 73, 241-255.

Assenat, L. (1985). Lait de brebis. Composition et propriétés. *In: Laits et Produits Laitiers*, vol. 1, Luquet, F.M. (Ed.). Technique et Documentation Lavoisier, APRIA, Paris.

Aston, J. W.; Creamer, L. K. (1986). Contribution of the components of the water-soluble fraction to the flavour of Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 21,229.



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Ausar, S. F.; Bianco, I. D.; Badini, R. G.; Castagna, L. F.; Modesti, N. M.; Landa, C. A.; Beltramo, D. M. (2001). Characterization of casein micelle precipitation by chitosans. *Journal of dairy science*, 84(2), 361-369.

Bican, P. (1983). High performance liquid chromatography of casein peptides. *Journal of Dairy Science*, 66(10), 2195-2197.

Bobé, G., Beitz, D. C., Freeman, A. E. & Lindberg, G. L. (1998). Separation and quantification of bovine milk proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 458-463.

Bontinis, T. G.; Mallatou, H.; Pappa, E. C.; Massouras, T.; Alichanidis, E. (2012). Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Ruminant Research*, 105(1), 193-201.

Calvo, M. V.; Castillo, I.; Díaz-Barcos, V.; Requena, T.; Fontecha, J. (2007). Effect of a hygienized rennet paste and a defined strain starter on proteolysis, texture and sensory properties of semi-hard goat cheese. *Food chemistry*, 102(3), 917-924.

Carles, C.; Dumas, B. R. (1984). Kinetics of action of chymosin (rennin) on some peptide bonds of bovine β -casein. *Biochemistry*, 23(26), 6839-6843.

Christensen, T. M.; Kristiansen, K. R.; Madsen, J. S. (1989). Proteolysis in cheese investigated by high performance liquid chromatography. *Journal of Dairy Research*, 56, 823-828.

Cifuentes, A.; de Frutos, M.; Diez-Masa, J. C. (1993). Analysis of whey proteins by capillary electrophoresis using buffer-containing polymeric additives. *J. Dairy Sci.*, 76, 1870-1875.

Clark, S. (1993). Associations between breed, age, lactation number, days in milk, season, month and percent protein in goat milk. Master's Thesis, Cornell University, Ithaca, NY.

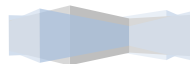
Clark, S.; Sherbon, J. W. (2000). Alpha_{s1}-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*, 38(2), 123-134.

Collin, J. C.; Kokelaar, A.; Rollet-Repecaud, O.; Delacroix-Buchet, A. (1991). Dosage des caséines du lait de vache par électrophorèse et par chromatographie liquide rapide d'échange d'ions (FPLC): comparaison des résultats. *Lait*, 71, 339-350.

De Jong, N., Visser, S., Olieman, C. (1993). Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 652, 207-213.

Di Luccia, A.; Mauriello, R.; Chianese, L.; Moio, L.; Addeo, F. (1990). κ -casein polymorphism in caprine milk. *Sci. Tec. Latt-Casearia*, 42, 305-314.

Engels, W. J. M.; Visser, S. (1994). Isolation and comparative characterization of components that contribute to the flavour of different types of cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 48, 127-140.



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Farkye N. Y.; Kiely L. J.; Allshouse R. D.; Kindstedt P. S. (1991). Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 74, 1433–1438.

Fernández, Verónica Guillermina. (2004). Determinación del Nivel de Actividad de Plasmina en Quesos Típicos Argentinos. Tesis de Magister en Ciencia de los Alimentos. Universidad Nacional del Litoral, Argentina.

Ferreira, I., Mendes, E., Ferreira, M. (2001). HPLC/UV Analysis of proteins in Dairy products using a hydrophobic interaction chromatographic column. *Analytical Science*, 17, 499-501.

Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Veiros, C.; Pinho, O.; Veloso, A. C.; Peres, A. M.; Mendonça, A. (2006). Casein breakdown in terrincho ovine cheese: comparison with bovine cheese and with bovine/ovine cheeses. *Journal of dairy science*, 89(7), 2397-2407.

Fox, P. F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72, 1379-1400.

Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*, 12, 457-509.

Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H. (2004). Cheese: an overview. *In: Cheese: chemistry, physics and microbiology*, 1, 1-18.

Franco, I.; Prieto, B.; Bernardo, A.; Prieto, J.G.; Carballo, J. (2003). Biochemical changes throughout the ripening of a traditional Spanish goat cheese variety (Babia-Laciana). *International Dairy Journal*, 13, 221-230.

Franco, I.; Prieto, B.; Urdiales, R.; Fresno, J.M.; Carballo, J. (2001). Study of the biochemical changes during ripening of Ahumado de Aliva cheese: a Spanish traditional variety. *Food Chemistry*, 74, 463-469.

Franzen, M.; Pabst, K.; Schulte-Coerne, H.; Gravert, H. O. (1995). Quantitative chromatographische Trennung von Milchproteinen. *Milchwissenschaft*, 50, 483-488.

Fresno, J.M.; Tornadijo, E.M.; Carballo, J.; Bernardo, A.; Gonzalez-Prieto, J. (1997). Proteolytic and lipolytic changes during the ripening of a Spanish craft goat cheese (Armada variety). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75(2), 148-154.

González de Llano, D.; Polo, M. C.; Ramos, M.; Martín-Alvárez, P. (1991). Free and total amino acids in the non-protein fraction of artisanal blue cheese during ripening. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 19, 529–532.

González de Llano, D.; Polo, M.C.; Ramos, M. (1995). Study of proteolysis in artisanal cheeses: high-performance liquid chromatography of peptides. *Journal of Food Science*, 78, 1018-1024.

Groen, A. F.; van der Vegt, R.; van Boekel, M. A. J. S.; de Rouw, O. L. A. M.; Vos, H. (1994). Case study on individual animal variation in milk protein composition as estimated by high pressure liquid chromatography. *Neth. Milk Dairy J.*, 48, 201-212.

V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Grosclaude, F. (1988). Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. Relations avec la quantité, la composition et les aptitudes fromagères du lait. INRA Productions Animales, 1, 5-17.

Grosclaude, F.; Mahé, M.F.; Brignon, G.; Di Stasio, L.; Jeunet, R. (1987). A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α_{s1} -casein. Genetics Selection Evolution, 19, 399-411.

Groen, A. F.; van der Vegt, R.; van Boekel, M. A. J. S.; de Rouw, O. L. A. M.; Vos, H. (1994). Case study on individual animal variation in milk protein composition as estimated by high pressure liquid chromatography. Nederlands melk en Zuiveltijdschrift, 48, 201-212.

Guinee, T. P.; Fox, P. F. (2004). Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. General aspects of cheese technology. In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 2 General Aspects, 3era ed. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P., eds. London: Elsevier.

Guinee T.P.; Mulholland E.O.; Mullins C.; Corcoran M.O. (2000). Effect of salting method on the composition, yield and functionality of low moisture Mozzarella cheese. Milchwissenschaft, 55, 135-138.

Guven, M.; Yerlikaya, S.; Hayaloglu, A. A. (2006). Influence of salt concentration on the characteristics of Beyaz cheese, a Turkish white-brined cheese. Lait, 86(1), 73-82.

Hayaloglu, A. A.; Yasar, K.; Tolu, C.; Sahingil, D. (2013). Characterizing volatile compounds and proteolysis in Gokceada artisanal goat cheese. Small Ruminant Research, 113(1), 187-194.

Huber, L. (1998). Validation of analytical methods: Review and strategy. LC-GC Magazine 11 (2), 96-105.

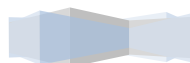
INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH) OF TECHNICAL REQUERIMENTS FOR THE REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. (1998). Validation of analytical procedures. ISBN 0-662-27422-9. Ottawa, Ontario, Canadá.

Irigoyen, A.; Izco, J. M.; Ibáñez, F. C.; Torre, P. (2000). Evaluation of the effect of rennet type on casein proteolysis in an ovine milk cheese by means of capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, 881(1), 59-67.

Jauber, A.; Martín, P. (1992). Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins. Identification of α_{s1} and α_{s2} genetic variants. Lait, 72, 235-247.

Jenness, R. (1980). Composition and characteristics of goat milk: review 1968- 1979. Journal of Dairy Science, 63(10), 1605-1630.

Joshi N. S.; Muthukumarappan K.; Dave R. I. (2002). Role of soluble and colloidal calcium contents on functionality of salted and unsalted part-skim mozzarella cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 57(3), 203-210.



Kelly, M.; Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H. (1996). Effect of salt-in-moisture on proteolysis in cheddar-type cheese. *Milchwissenschaft* 51, 498-501.

Kinghorn, N. M.; Norris, C. S.; Paterson, G. R.; Otter, D. E. (1995). Comparison of capillary electrophoresis with traditional methods to analyse bovine whey proteins. *J. Chromatogr. A*, 700, 111-123.

Kristiansen K.R., Deding A.S., Jensen D.F., Ardo Y., Quvist K.B. (1999). Influence of salt content on ripening of semi-hard round eyed cheese of Danbo-type. *Milchwissenschaft*, 54, 19-23.

Laborda, M.A.; Rubiolo, A.C. (1999). Proteolysis of fynbo cheese salted with NaCl/KCl and ripened at two temperatures. *Journal of Food Science*, 64, 33-36.

Law, J.; Fitzgerald, G.F.; Uniacke-Lowe, T.; Daly, C.; Fox, P.F. (1993). The contribution of Lactococcal starter proteinases to proteolysis in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 76, 2455-2467.

Lawrence, R. C.; Creamer, L. K.; Gilles, J. (1987). Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 70, 1748-1760.

Leroux, C.; Martin, P.; Mahé, M.F.; Leveziel, H.; Mercier, J.C. (1990). Restriction fragment length polymorphism identification of goat α_{s1} -casein alleles: a potential tool in selection of individuals carrying alleles associated with a high level protein synthesis. *Animal Genetics*, 21(4), 341-351

McLean, D. M.; Graham, E. R. B.; Ponzoni, R. W.; McKenzie, H. A. (1984). Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. *Journal of Dairy Research*, 51, 531-546.

McSweeney, P. L. H. (2004). Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. *In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, 1, 347-360.

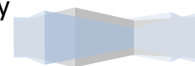
Michaelidou, A.; Alichanidis, E.; Urlaub, H.; Polychroniadou, A.; Zerfiridis, G. K. (1998). Isolation and identification of some major water-soluble peptides in Feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 81, 3109-3116.

Montalbano, M.; Tortorici, L.; Mastrangelo, S.; Sardina, M.T.; Portolano, B. (2014). Development and validation of RP-HPLC method for the quantitative estimation of α_{s1} -genetic variants in goat milk. *Food Chemistry*, 156, 165-169.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1977). Proteolysis of α_{s1} -casein by chymosin: influence of pH and urea. *Journal of Dairy Research*, 44(03), 533-540.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1978). Proteolysis of β -casein by chymosin: influence of pH, urea and NaCl. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 2, 135-143.

Ng-Kwai-Hang, K. F.; Hayes, J. F.; Moxley, J. E.; Monardes, H. G. (1987). Variation in milk protein concentrations associated with genetic polymorphism and environmental factors. *Journal of Dairy Science*, 70, 563-570.



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Noomen, A. (1978). Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheeses (Meschenger type). 1. Activity of milk protease. Netherlands Milk and Dairy Journal, 32, 26-48.

Oliszewski, R.; Van Nieuwenhove, C.; González, S.N.; Pérez Chaia, A.B. (2006). Identificación y caracterización tecnológica de bacterias ácido lácticas aisladas de leche de cabra y quesos artesanales del noroeste argentino. Revista Argentina de Lactología, 24, 47-58.

Oliszewski, R.; Wolf, I. V.; Bergamini, C. V.; Candiotti, M.; Perotti, M. C. (2013). Influence of autochthonous adjunct cultures on ripening parameters of Argentinean goat's milk cheeses. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(11), 2730-2742.

Park, Y. W. (2001). Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. Journal of Dairy Science, 84(E. Suppl.), E84-E92.

Parris, N.; White, A. E.; Farrell Jr., H. M. (1990). Identification of altered proteins in nonfat dry milk powder prepared from heat-treated skim milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38(3), 824-829.

Parris, N., Baginski, M.A. (1991). A rapid method for the determination of whey protein denaturation. Journal of Dairy Science, 74, 58-64.

Pereira, C. I., Gomes, E. O., Gomes, A. M., & Malcata, F. X. (2008). Proteolysis in model Portuguese cheeses: effects of rennet and starter culture. Food Chemistry, 108(3), 862-868.

Pino, A.; Prados, F.; Galan, E.; McSweeney, P.L.H.; Fernandez-Salguero, J. (2009). Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. Food Research International, 42, 324-330.

Politis, I.; Ng-Kwai-Hang, K.F. (1988). Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulating properties of milk. Journal of Dairy Science, 71, 1740-1746.

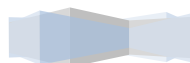
Prieto, B.; Franco, I.; Fresno, J. M.; Prieto, J. G.; Bernardo, A.; Carballo, J. (2004). Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of León cow milk cheese. Food chemistry, 85(3), 389-398.

Reid, J. R.; Moore, C. H.; Midwinter, G. G.; Pritchard, G. G. (1991). Action of a cell wall proteinase from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SK11 on bovine α_{s1} -casein. Applied microbiology and biotechnology, 35(2), 222-227.

Remeuf, F.; Lenoir, J. (1986). Relationship between the physico-chemical characteristics of goat's milk and its rennetability. Bulletin-International Dairy Federation (Belgium), 202, 68-72.

Resmini, P.; Pellegrino, L.; Andreini, R.; Prati, F. (1989). Evaluation of milk whey proteins by reversed-phase HPLC. Scienza E Tecnica Lottiero Casearia, 40, 7-23.

Resmini, P.; Hogenboom, J. A.; Pazzaglia, C.; Pellegrino, L. (1993). Free amino acids for the analytical characterization of Grana Padano cheese. Scienza E Tecnica Lottiero Casearia, 44, 7-19.



V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Saldo, J.; McSweeney, P.L.H.; Sendra, E.; Kelly, A.L.; Guamis, B. (2002). Proteolysis in caprine milk cheese treated by high pressure to accelerate cheese ripening. *International Dairy Journal*, 12, 35-44.

Santapaola, J.; Andrés, A.; Maldonado, S.; Fernández, M. (2012). Application of the response surface analysis method to the study of salt and water profiles in goat's cheese salted in layers. *Journal of Food Process Engineering*, 35(3), 355-369.

Sihufe, G. A.; Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (2003). Casein Degradation of Fynbo Cheese Salted with NaCl/KCl Brine and Ripened at Various Temperatures. *Journal of food science*, 68(1), 117-123.

Sihufe, G.A.; Zorrilla, S.E.; Perotti, M.C.; Wolf, I.V.; Zalazar, C.A.; Sabbag, N.G.; Costa, S.C.; Rubiolo, A.C. (2010a). Acceleration of cheese ripening at elevated temperature. An estimation of the optimal ripening time of a traditional Argentinean hard cheese. *Food chemistry*, 119, 101-107.

Sihufe, G. A.; Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (2010b). The influence of ripening temperatura and sampling site on the proteolysis in Reggianito Argentino cheese. *LWT- Food Science and Technology*, 43, 247-253.

Singh, T. K.; Fox, P. F.; Højrup, P.; Healy, A. (1994). A scheme for the fractionation of cheese nitrogen and identification of principal peptides. *International Dairy Journal*, 4(2), 111-122.

Sousa, M.J.; Ardö, Y.; McSweeney, P.L.H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Intenational Dairy Journal*, 11, 327-345.

Storry, J.E.; Grandison, A.S.; Millard, D.; Owen, A.J.; Ford, G.D. (1983). Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant. *Journal of Dairy Research*, 50, 215-229.

Strange, E. D.; van Hekken, D.; Thompson, M. P. (1991). Qualitative and quantitative determination of caseins with reverse phase and anion-exchange HPLC. *Journal of Food Science*, 56, 1415-1420.

Taboada, N.; Núñez, M.; Medina, R.; López Alzogaray, M. S. (2014). Characterization and Technological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Argentinean Goat's Milk Products. *Food Biotechnology*, 28(2), 123-141.

Tejada, L.; Abellán, A.; Cayuela, J. M.; Martínez-Cacha, A.; Fernández-Salguero, J. (2008). Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal*, 18(2), 139-146.

Thomas, T. D.; Pearce, K. N. (1981). Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 16, 253.

Trujillo, A. J.; Buffa, M.; Casals, I.; Fernández, P.; Guamis, B. (2002). Proteolysis in goat cheese made from raw, pasteurized or pressure-treated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(4), 309-319.

V. SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES MAYORITARIAS DE CASEÍNAS EN QUESO DE CABRA POR HPLC-UV EN FASE REVERSA. EFECTO DEL MÉTODO DE SALADO EN LA PROTEÓLISIS PRIMARIA

Urbach, G. (1993). Relations between cheese flavour and chemical composition. *International Dairy Journal*, 3, 389–422.

Veloso, A. C. A.; Teixeira, N.; Ferreira, I.M.P.L.V.O. (2002). Separation and quantification of the major casein fractions by reversed-phase high-performance liquid chromatography and urea-polyacrylamide gel electrophoresis. Detection of milk adulterations. *Journal of Chromatography A*, 967, 209-218.

Veloso, A. C.; Teixeira, N.; Peres, A. M.; Mendonça, Á.; Ferreira, I. M. (2004). Evaluation of cheese authenticity and proteolysis by HPLC and urea–polyacrylamide gel electrophoresis. *Food chemistry*, 87(2), 289-295.

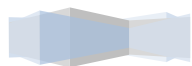
Verdini, R. A.; Zorrilla, S. E.; Rubiolo, A. C. (2004). Characterisation of soft cheese proteolysis by RP-HPLC analysis of its nitrogenous fractions. Effect of ripening time and sampling zone. *International Dairy Journal*, 14, 445-454.

Visser, S.; Slangen, K.J. (1977). On the specificity of chymosin (rennin) in its action on bovine β -casein. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31, 16-30.

Wilkinson, M. G.; Guinee, T. P.; O'Callaghan, D. M.; Fox, P. F. (1994). Autolysis and proteolysis in different strains of starter bacteria during Cheddar cheese ripening. *The Journal of Dairy Research*, 61, 249–262.

Zorrilla, S.E.; Rubiolo, A.C. (1994). Fynbo cheese NaCl and KCl changes during ripening. *Journal of Food Science*, 59, 972-975.

Zorrilla, S.E., Rubiolo, A.C. (1997) Kinetics of casein degradation during ripening of Fynbo cheese salted with NaCl/KCl brine. *Journal of Food Science*, 62, 386-389.



VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL
DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE
CABRAS SALADOS EN SECO

VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE CABRAS SALADOS EN SECO

VI.1. RESUMEN

En este capítulo se muestra la caracterización del perfil de ácidos grasos de quesos de cabra salados en seco por dos metodologías diferentes. Cuatro lotes de quesos de cabra fueron elaborados al principio y al final del verano de años consecutivos, en dos lotes los quesos fueron salados en masa y en los otros dos lotes los quesos fueron salados por distribución de sal en su superficie. Para la mayoría de los ácidos grasos identificados se encontró efecto significativo para el método de salado pero en ningún caso se encontró diferencia significativa para el tiempo de maduración estudiado de 28 días. Los ácidos grasos encontrados en mayor proporción en los quesos de cabra salados en seco fueron los ácidos palmítico, oleico (*cis* 9) y esteárico. Los quesos salados superficialmente presentaron una mayor proporción de ácidos grasos de cadena corta y media así como también de ácidos grasos saturados. Los quesos salados en masa presentaron una mayor proporción de ácidos grasos de cadena larga así como también de ácidos grasos insaturados. Para la relación ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$ no se encontró diferencia significativa para los métodos de salados, registrándose un valor promedio para el tiempo de maduración estudiado de 6,9 para los quesos salados en masa y de 7,1 para los quesos salados superficial. Para el ácido linoleico conjugado (CLA) no se encontró diferencia significativa para el método de salado. Los valores promedios para el período de maduración estudiado fueron de 0,9% para el salado en masa y de 0,8% para el salado superficial. Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que algunos índices nutricionales de los quesos de cabra fueron favorables en una perspectiva asociada a la salud de los potenciales consumidores. Estos resultados remarcan la importancia del queso de cabra como una fuente natural de CLA y de ácidos grasos beneficiosos para la salud humana.

VI.2. INTRODUCCIÓN

En la República Argentina, el ganado caprino existe desde la colonización, momento en el cual fue importado por los españoles y distribuido a lo largo del territorio nacional. Actualmente, la producción caprina se caracteriza por modificar el escenario en el que se desarrollan las economías regionales que cuentan con escasos recursos y condiciones poco propicias para desarrollar actividades económicas alternativas, dando nuevas herramientas tendientes al sustento de familias que se desenvuelven en un marco de informalidad y vulnerabilidad socioeconómica, permitiéndoles desarrollar una nueva actividad generadora de ingresos propios (PROCAL, 2011).

La producción de quesos de ovinos y caprinos en Argentina data de varias décadas, sin embargo siempre se ha caracterizado por llevarse a cabo en explotaciones de tipo familiar que desarrollan simultáneamente la producción primaria y la fabricación de quesos.

En general, la actividad se desarrolla en áreas geográficas marginadas con escasos recursos forrajeros en las cuales los animales pueden alimentarse en los campos naturales, generando un menor costo para los productores. El noroeste argentino concentra el 25 por ciento del total de las existencias, siendo Jujuy una de las 6 provincias que conforman esta región del país (PROCAL, 2011).

La producción de carne es, tradicionalmente, el producto más importante derivado del caprino en el país. Sin embargo, recientemente se ha ido desarrollando la industria láctea caprina, especialmente en la fabricación de quesos artesanales. Al igual que en el caso de la carne, la producción de leche sufre la limitante de la estacionalidad, aunque la demanda del producto es regular a lo largo del año. En el país se procesan aproximadamente 1,5 millones de litros de leche por año, de los que se obtienen alrededor de 150 toneladas de queso artesanal (PROCAL, 2011).

La fracción lipídica, en particular, es uno de los componentes más importantes de la leche de cabra y es la parte más variable, teniendo en cuenta diferencias inter e intra-especies (Aganga et al., 2002). Por otra parte, la grasa está involucrada en el rendimiento del queso, la firmeza, el color y el sabor de los productos lácteos de cabra. La nutrición animal es el principal factor que regula la síntesis de grasa de la leche y de la composición de ácidos grasos (AG) en rumiantes (Bernard et al., 2008).

Se sabe que algunos AG en la dieta están considerados como factores positivos o negativos que influyen en la salud humana (Ribeiro y Ribeiro, 2010). Los productos lácteos derivados de leche de rumiantes son la principal fuente dietética de ácido linoleico conjugado (CLA), representado principalmente por el isómero cis-9, trans-11 (ácido ruménico) y también por el isómero trans-10, cis-12. Estos AG han demostrado numerosos efectos biológicos beneficiosos en modelos animales y en los seres humanos (Kelly, 2001). Las fuentes dietéticas provenientes de los rumiantes, como leche, queso y carne contienen más CLA que los alimentos de origen no rumiante (Bessa et al., 2000).

Mientras que muchos trabajos en la bibliografía se refieren a las composiciones en ácidos grasos (AG) en leche de cabra (Chilliard et al., 2000; Rodríguez-Alcalá et al., 2009; Blasi et al., 2008; Sanz Sampelayo et al., 2002), pocos trabajos informan detalladamente la composición de AG en quesos de cabra, a veces sin especificar el tipo de muestras. Cossignani et al. (2014) estudiaron leche de cabra y quesos de cabra frescos y semiduros comprados en un supermercado en Perugia (Umbria, Italia), durante los meses de Septiembre a Octubre de 2013. Aguilar et al. (2014) estudiaron diferentes muestras de quesos de cabra, oveja, vaca, quesos de mezclas de leche de vaca, cabra y oveja y quesos mezcla de leche de oveja y vaca, obtenidos de supermercados de distintas ciudades chilenas. Sert et al. (2014) evaluaron el perfil de ácidos grasos en queso Tulum (queso tradicional de Turquía elaborado a partir de leche de cabra) producido a partir de leche cruda y leche pasteurizada, madurados por 180 días a 6°C y 80-85% de humedad relativa.

En la última década, se ha vuelto más relevante el conocimiento sobre el contenido de grasa de los productos lácteos y esto ha conducido al desarrollo de diferentes estrategias nutricionales para mejorar la composición de AG de productos lácteos como el queso (Vera et al., 2009; Toro-Mujica et al., 2011). En efecto, el perfil de ácidos grasos de la leche de los rumiantes puede verse afectado por diferentes factores como el tipo de especie, etapas de lactancia, la alimentación y la



genética (Vargas-Bello-Pérez y Garnsworthy, 2013). Poco se sabe sobre la influencia o no de variables tecnológicas sobre la composición de los ácidos grasos en los distintos derivados lácteos. La producción de queso con una mejor composición de ácidos grasos podría significativamente aumentar la rentabilidad económica de los agricultores (Vera et al., 2009).

En el capítulo anterior se estudió la influencia del método de salado en el fenómeno de proteólisis primaria. En este capítulo, se procura estudiar la influencia del método de salado en la composición de los ácidos grasos de manera de obtener un estudio más completo sobre los procesos bioquímicos involucrados durante la maduración de los quesos de cabra salados en seco de la región. Con particular atención al contenido de CLA y de algunos índices nutricionales de estos productos lácteos. Con este conocimiento, se podrían plantear mejoras a aplicar en la producción láctea caprina y ayudar a las comunidades agrícolas a incrementar la calidad final de sus productos. Además, los resultados podrían convertirse en la base para el desarrollo de la evaluación comparativa de herramientas y estrategias destinadas a mejorar las características nutricionales del queso de cabra de la región.

VI.3. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.3.1. Muestras

Se realizaron cuatro elaboraciones diferentes de queso, cada una de ellas partiendo de 40 litros de leche de cabra obtenida del mismo tambo caprino de la zona de los valles jujeños. Dos de los lotes de quesos elaborados fueron salados por mezcla de sal con granos de cuajada (salado en masa) según la metodología descrita en el capítulo IV y los otros dos lotes de quesos fueron salados por distribución de sal seca sobre la superficie (salado superficial) según la metodología descrita en el capítulo III. Para cada método de salado estudiado se realizó una elaboración al comienzo del verano (época de mayor producción de leche en la zona) en el mes de Noviembre y otra elaboración al final del verano en el mes de Marzo, durante dos años consecutivos. Las combinaciones realizadas fueron las siguientes:

Lote 1: Marzo Año 1 - Quesos salado superficial.

Lote 2: Noviembre Año 1 - Quesos salado en masa.

Lote 3: Marzo Año 2 - Quesos salado en masa.

Lote 4: Noviembre Año 2 - Quesos salado superficial.

Se seleccionó un queso de cada lote previo al proceso de salado (cuajada), a las 5 horas, 1 día, 4 días, 1, 2, 3 y 4 semanas de maduración. La grasa fue extraída de dos muestras previamente homogeneizadas de cada queso. Los quesos fueron elaborados y madurados según la metodología descrita en los capítulos III y IV.



VI.3.2. Metodología y procedimiento del análisis de ácidos grasos

Para la determinación de ácidos grasos se trabajó con muestras de queso de aproximadamente un gramo según método 933.05 (AOAC, 1995). 50 mg de la grasa obtenida se disolvieron en 3 ml de hexano y 0,3 ml de solución metanólica de hidróxido de potasio 2 N con el agregado de 0,5 ml de solución estándar de ácido undecanoico (C11:0). La posterior transesterificación de los ácidos grasos libre y ácidos grasos de los triglicéridos de la grasa del queso fue llevada a cabo siguiendo la norma UNE 55-037-73 (Aenor, 1991). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) así obtenidos se extrajeron con hexano, la mezcla hexano-ésteres se trasvasó a viales para su posterior análisis por Cromatografía Gaseosa (GC). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

Equipo	GC HP 6890 Series GC System Plus, Agilent Technologies
Columna	CapilarDB-225 J&W Scientific
Largo de columna	30 metros
Película de columna	0,25 μ m
Diámetro interno	0,25 mm
Temperatura del horno	100°C
Rampa de calentamiento 1	10°C/min hasta 180°C por 5 minutos
Rampa de calentamiento 2	5°C/min hasta 210°C por 20 minutos
Tiempo total corrida	40 minutos
Flujo por columna	0,9 ml/min
Flujo inicial	15 ml/min
Split	1/100
Detector	FID
Temperatura detector	240°C
Volumen de inyección	1 μ l
Temperatura inyección	240°C
Gas inerte	Hidrógeno UAP

La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación con el tiempo de retención correspondiente al metil éster del ácido graso. Los estándares de pureza 99% para GC utilizados fueron: FAME-Mix C4–C24 18919-1 SUPELCO, GLC 463 FA Mix Standard Nu-ChekPrep, Inc. MN USA Co., ácido undecanoico (C11:0) Sigma Aldrich como estándar interno y para el estándar de CLA se utilizaron Mix Isómeros de metil éster de ácido linoleico Marca Supelco y metil éster del ácido octadecadienoico conjugado Marca Sigma Aldrich. Los ácidos grasos totales se expresaron como g AG .(100 g del total de ácidos grasos)⁻¹, calculados a partir del área de los picos.

VI.3.3 Análisis estadístico

Para determinar en cada ácido graso identificado si existen diferencias significativas entre las muestras de cuajadas utilizadas para cada método de salado se realizó un Análisis de la Varianza Simple tomando como factor el método de salado.



Para estudiarla influencia del tiempo de maduración y el método de salado en cada uno de los ácidos grasos identificados se realizó un Análisis de Varianza Multifactorial. Se consideraron diferencias significativas para $P < 0,05$. Las diferencias entre las medias se discriminaron utilizando el método de Tukey. Para todas las pruebas estadísticas se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.11.

VI.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.4.1. Perfil de ácidos grasos en cuajadas y quesos

Para cada uno de los ácidos grasos identificados en los cromatogramas se realizaron en las muestras de cuajadas un análisis de varianza para evaluar si existen diferencias significativas en la concentración de los mismos, previas al salado. Los resultados del análisis se pueden ver en la Tabla VI.1. Los ácidos grasos con asterisco presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) para las muestras de cuajada. Salvo para el ácido margárico, el ácido linoleico y los ácidos grasos ω_6 , en los demás ácidos grasos no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las muestras. También se puede ver en la Tabla VI.1 que no hay diferencias en el contenido de los AG provenientes de leches de principios y finales del verano, ya que la desviación estándar dentro de cada método de salado en general son pequeñas por lo que la variación en la alimentación natural de las cabras dada por diferencias en la disponibilidad de alimentos no influye en el perfil de AG de la leche y por ende de la cuajada inicial. Para el ácido linoleico se encontró diferencia significativa ($P = 0,006$) entre las muestras de cuajadas para los quesos salados posteriormente en masa y superficial, donde el test de Tukey reveló una mayor concentración de este ácido graso en las muestras de cuajadas utilizadas para la elaboración de los quesos salados en masa. Para los ácidos grasos ω_6 encontramos diferencia significativa ($P = 0,0001$) presentando mayor concentración de los mismos las cuajadas con las que posteriormente se elaboraron los quesos salados en masa; por lo que el efecto encontrado debido al método de salado (Tabla VI.2) para estos ácidos grasos está influida por los diferentes porcentajes encontrados en las muestras iniciales. Por el contrario, para el ácido margárico se encontró diferencia significativa ($P = 0,0007$) resultando con mayor concentración de este ácido graso las cuajadas que posteriormente resultaron en quesos salados superficial aunque finalmente los quesos salados en masa fueron los que resultaron con mayor concentración de C17:0 durante el período de maduración estudiado (Tabla VI.2).

En la Tabla VI.2 se muestran los resultados del análisis de la varianza para los ácidos grasos de las muestras de quesos estudiando el efecto del tipo de salado y el tiempo de maduración. En todos los casos se encontró un efecto no significativo para el tiempo de maduración ($P > 0,05$), por lo que el porcentaje de ácidos grasos en todos los casos no varía significativamente durante el tiempo de maduración estudiado de 28 días. Teniendo en cuenta que en este estudio la esterificación de los lípidos se llevó a cabo de conformidad con el método UNE 55-037-73 (Aenor, 1991) y que este procedimiento permite obtener ésteres metílicos de todos los ácidos grasos presentes en la muestra, ya sea a partir de los ácidos grasos que forman parte de los triglicéridos como de los ácidos grasos en forma libre, es de esperar que la concentración de los ácidos grasos totales no cambie con el tiempo de maduración. Fontecha et al. (1990b) cuando estudiaron la

composición de los principales ácidos grasos en la leche, cuajada y queso de cabra Majorero entre 2 y 90 días de maduración también encontraron que no hubo alteraciones significativas durante la maduración. Prandini et al. (2011) informaron también que no observaron diferencia estadísticamente significativa en la composición de ácidos grasos y el contenido de CLA entre los quesos de leche de cabra con diferentes tiempos de maduración. Martín-Hernández et al. (1992) informaron también que la composición media de ácidos grasos de la fracción glicerídica en la leche, cuajada y queso no mostró alteraciones significativas cuando estudiaron tres tipos diferentes de quesos de cabra aunque si encontraron un ligero aumento de los ácidos grasos libres para los diferentes quesos, madurados 15 días, 60 días y 90 días.

Tabla VI.1. Concentración de ácidos grasos [g AG . (100 gr AG totales)⁻¹] para las muestras de cuajada utilizadas posteriormente para elaborar quesos con diferente tipo de salado

ÁCIDO GRASO	TIPO SALADO	% AG
C 4:0 Butírico	SM	1,1 ± 0,3
	SS	1,1 ± 0,3
C 6:0 Caproico	SM	1,5 ± 0,2
	SS	1,6 ± 0,2
C 8:0 Caprílico	SM	2,0 ± 0,1
	SS	2,1 ± 0,3
C 10:0 Cáprico	SM	7,1 ± 0,2
	SS	7,8 ± 0,6
C 12:0 Láurico	SM	3,1 ± 0,2
	SS	3,2 ± 0,1
C 14:0 Mirístico	SM	8,4 ± 0,2
	SS	8,5 ± 0,3
C 15:0 Pentadecílico	SM	0,7 ± 0,2
	SS	0,80 ± 0,06
C 16:0 Palmítico	SM	27 ± 1
	SS	28 ± 2
C 16:1 t9 transPalmitoleico	SM	0,46 ± 0,03
	SS	0,41 ± 0,06
C 16:1 c9 Palmitoleico	SM	0,61 ± 0,01
	SS	0,59 ± 0,03
C 17:0 Margárico *	SM	0,44 ± 0,02
	SS	0,493 ± 0,009
C 18:0 Esteárico	SM	14 ± 1
	SS	14 ± 3
C 18:1 c9 Oleico	SM	27 ± 1
	SS	25 ± 2
C 18:1 c11 cisVaccénico	SM	0,58 ± 0,09
	SS	0,45 ± 0,09



C 18:1 c13	SM	0,29 ± 0,05
	SS	0,24 ± 0,05
C 18:2 t9t12 Linoelaidico	SM	0,4 ± 0,1
	SS	0,39 ± 0,06
C 18:2 c9c12Linoleico *	SM	2,4 ± 0,2
	SS	1,7 ± 0,1
C 18:3 c9c12c15 α - Linolénico	SM	0,6 ± 0,3
	SS	0,3 ± 0,1
CLA Linoleico Conjugado	SM	0,85 ± 0,09
	SS	0,9 ± 0,2
C 20:0 Araquídico	SM	0,29 ± 0,03
	SS	0,31 ± 0,05
C 20:4 c5c8c11c14 Araquidónico	SM	0,21 ± 0,03
	SS	0,19 ± 0,06
Otros	SM	0,26 ± 0,04
	SS	0,30 ± 0,08
Ácidos grasos ω 3	SM	0,6 ± 0,3
	SS	0,3 ± 0,1
Ácidos grasos ω 6 *	SM	3,0 ± 0,1
	SS	2,3 ± 0,1
Relación AG ω 6 / ω 3	SM	7 ± 4
	SS	7 ± 2

* presentan diferencia significativa ($P < 0,05$) para el método de salado.
Concentraciones expresadas en valores promedios ± desviación estándar.
SM: salado en masa; SS: salado superficial

Se encontró efecto del método de salado para la mayoría de los ácidos grasos registrados. En la Tabla VI.2 están identificados con un asterisco en la columna del ácido graso. Para el caso de los ácidos grasos caprílico, cáprico, láurico, mirístico y C15:0 se encontró efecto significativo para el método de salado ($P < 0,05$). El test de Tukey reveló una mayor proporción promedio en los quesos salados superficialmente que en los quesos salados en masa. Para el caso de los ácidos grasos *trans*palmitoleico, margárico, esteárico, oleico, *cis*vaccénico, C18:1 c13, linoelaidico, linoleico, α- linolénico y araquídico también se encontró en el análisis de la varianza efecto significativo del método de salado ($P < 0,05$) pero el test de Tukey reveló que en los quesos salados en masa se encuentra un mayor porcentaje promedio de estos ácidos grasos que en los quesos salados superficial.

En los ácidos grasos denominados otros se informan algunos ácidos grasos encontrados en quesos de algunas elaboraciones y no en otras. Por ejemplo, para los quesos salados en masa elaborados en el mes de Noviembre se identificaron los ácidos grasos miristoleico (C14:1 c9) y margaroleico (C17:1 c10) y para los quesos elaborados con el mismo método de salado pero partiendo de leche del mes de Marzo se encontraron los ácidos grasos caproleico (C10:1 c9), lauroleico (C12:1 c9) y miristoleico. Para los quesos elaborados por el método de salado superficial se encontraron para

la elaboración del mes de Marzo los ácidos grasos miristoleico y margaroleico y para la elaboración del mes de Noviembre los ácidos grasos caproleico, lauroleico, miristoleico y margaroleico. Chávarri et al. (1999) también informaron que encontraron los ácidos miristoleico y caproleico así como también ácidos grasos con 20 átomos de carbonos en algunos de los quesos de oveja Idiazábal analizados en tres épocas diferentes del año (invierno, primavera y verano) en cantidades menores al 1% del total.

Como podemos ver en la Tabla VI.2, la proporción de ácido butírico en los quesos de cabra salados en seco se determinó que fue de 1,1% para los quesos salados en masa y superficial para un día de maduración. Esta concentración inicial es similar a la concentración encontrada por Sert et al. (2014) en queso Tulum (queso de cabra salado en masa) elaborados a partir de leche de cabra tratada térmicamente, que fue de 0,95% para el mismo tiempo de maduración. Estos autores para el día 30 de maduración encontraron una concentración de 1,30% y en nuestro caso para 28 días de maduración encontramos para el salado en masa una concentración de 1,4% y de 0,9% para los quesos salado superficial sin encontrar diferencia significativa para el método de salado. La concentración de este ácido graso es relevante ya que el sabor picante o acre característico que se encuentra en los quesos italianos como Pecorino Romano, Fiore Sardo y Provolone, se han atribuido a su alto contenido de ácido butírico (Barzaghi et al., 1997;. Addis et al., 2005a, b).

Para el ácido caprílico se encontró influencia del método de salado. Para los quesos salados en masa se encontró un 2,0% para un día de maduración y para los quesos salados superficial una concentración del 2,2%, estos valores se mantienen sin variación significativa durante los 28 días de maduración estudiados. Estas proporciones son similares a la encontrada para 30 días de maduración en quesos Tulum por Sert et al. (2014) que obtuvieron una concentración de 2,17% y es más elevada a la concentración encontrada por estos autores para los mismos quesos con un día de maduración (1,75%). Cossignani et al. (2014) encontraron en quesos de cabra semiduros una proporción 1,7% para este ácido graso, sin indicar el tiempo de maduración de estos quesos.

Para el contenido de ácido cáprico también se encontró influencia del método de salado. Para un día de maduración se encontró para el salado en masa un 7% y para el salado superficial un 9%. Estos valores se mantuvieron sin variación significativa durante el período de maduración estudiado. Estos valores son similares a los encontrados en quesos Tulum por Sert et al. (2014) que encontraron una concentración de 7,58% para un día de maduración y de 8,11% para 30 días de maduración y son mayores a los encontrados por Cossignani et al. (2014) en queso de cabra semiduro en donde informan un porcentaje del 6% y significativamente menor con respecto a la leche de cabra (8,9%).

La concentración de ácido láurico también presentó diferencia significativa para el método de salado. En los quesos salados en masa fue de 3,1% y de 4,1% para los quesos salados superficial para el primer día de maduración, sin diferencia significativa durante el período de maduración estudiado. Estos valores concuerda con lo encontrado por Sert et al (2014) en queso Tulum para el mismo período de maduración que varía entre 3,18% y 3,47%.

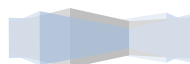


Tabla VI.2. Concentración de ácidos grasos [g AG . (100 gr AG totales)⁻¹] en función del tiempo de maduración y el método de salado.

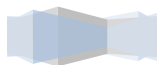
ÁCIDO GRASO	TIPO SALADO	TIEMPO DE MADURACIÓN (DÍAS)						
		0,21	1	4	7	14	21	28
C4:0 Butírico	SM	1,4 ± 0,5	1,1 ± 0,5	0,8 ± 0,1	0,95 ± 0,09	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,4
	SS	0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,5	1,2 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,4	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,2
C6:0 Caproico	SM	1,7 ± 0,3	1,6 ± 0,4	1,4 ± 0,1	1,41 ± 0,06	1,6 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,6 ± 0,5
	SS	1,2 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,49 ± 0,08	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,4	1,4 ± 0,4
C8:0 Caprílico *	SM	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,4	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,2	1,6 ± 0,4	2,0 ± 0,3
	SS	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,4
C10:0 Cáprico *	SM	7,2 ± 0,3	7 ± 1	6,8 ± 0,4	6,9 ± 0,4	7,5 ± 0,6	6 ± 1	7,0 ± 0,7
	SS	7 ± 1	9 ± 1	9 ± 1	8,1 ± 0,5	8,6 ± 0,8	9 ± 1	9 ± 1
C12:0 Láurico *	SM	3,02 ± 0,08	3,1 ± 0,3	3,0 ± 0,2	3,0 ± 0,2	3,2 ± 0,3	2,9 ± 0,3	3,0 ± 0,2
	SS	4 ± 1	4,1 ± 0,8	4,2 ± 0,9	3,9 ± 0,5	4,1 ± 0,7	4,1 ± 0,8	4 ± 1
C14:0 Mirístico *	SM	8,4 ± 0,5	8,6 ± 0,4	8,5 ± 0,4	8,4 ± 0,4	8,8 ± 0,4	8,5 ± 0,5	8,3 ± 0,6
	SS	9 ± 2	10 ± 2	10 ± 2	10 ± 1	10 ± 1	10 ± 2	10 ± 2
C15:0 Pentadecílico *	SM	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2
	SS	0,81 ± 0,06	0,82 ± 0,06	0,79 ± 0,03	0,81 ± 0,05	0,81 ± 0,04	0,8 ± 0,1	0,82 ± 0,06
C16:0 Palmítico	SM	26,7 ± 0,6	27 ± 2	28 ± 1	27 ± 1	27 ± 2	28 ± 1	27 ± 2
	SS	28 ± 2	28 ± 2	28 ± 2	28 ± 2	28 ± 2	28 ± 2	28 ± 1
C16:1 t9 trans Palmitoleico *	SM	0,46 ± 0,03	0,45 ± 0,03	0,45 ± 0,03	0,46 ± 0,06	0,45 ± 0,03	0,44 ± 0,06	0,43 ± 0,05
	SS	0,5 ± 0,2	0,44 ± 0,08	0,3 ± 0,1	0,37 ± 0,04	0,34 ± 0,06	0,3 ± 0,1	0,37 ± 0,04
C16:1 c9 Palmitoleico	SM	0,595 ± 0,008	0,59 ± 0,01	0,60 ± 0,02	0,600 ± 0,002	0,60 ± 0,01	0,61 ± 0,01	0,58 ± 0,02
	SS	0,6 ± 0,1	0,61 ± 0,07	0,60 ± 0,07	0,60 ± 0,07	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,59 ± 0,07
C17:0 Margárico *	SM	0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,6 ± 0,3
	SS	0,53 ± 0,07	0,47 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,46 ± 0,03	0,48 ± 0,04	0,47 ± 0,02
C18:0 Esteárico *	SM	14 ± 2	14,0 ± 0,6	14,4 ± 0,8	14 ± 1	14,0 ± 0,9	14 ± 1	14,6 ± 0,8
	SS	12 ± 2	13 ± 3	13 ± 3	13 ± 3	13 ± 3	13 ± 3	13 ± 3
C18:1 c9 Oleico *	SM	26 ± 2	26,6 ± 0,8	27,1 ± 0,8	27 ± 1	26 ± 1	27 ± 2	27 ± 1
	SS	23 ± 4	24 ± 3	24 ± 3	24 ± 2	24 ± 3	24 ± 3	25 ± 4
C18:1 c11 cisVaccénico *	SM	0,7 ± 0,3	0,56 ± 0,09	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,56 ± 0,09
	SS	0,61 ± 0,01	0,48 ± 0,05	0,6 ± 0,1	0,48 ± 0,04	0,50 ± 0,04	0,5 ± 0,1	0,46 ± 0,06



VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE CABRAS SALADOS EN SECO

C18:1 c13 *	SM	0,32 ± 0,01	0,29 ± 0,05	0,30 ± 0,04	0,34 ± 0,02	0,31 ± 0,05	0,31 ± 0,05	0,31 ± 0,05
	SS	0,38 ± 0,07	0,3 ± 0,1	0,27 ± 0,03	0,24 ± 0,04	0,25 ± 0,04	0,2 ± 0,1	0,25 ± 0,04
C18:2 t9t12 Linoelaidico *	SM	0,53 ± 0,06	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,56 ± 0,09	0,43 ± 0,05
	SS	0,5 ± 0,1	0,36 ± 0,06	0,40 ± 0,07	0,37 ± 0,05	0,31 ± 0,05	0,2 ± 0,1	0,32 ± 0,08
C18:2 c9c12 Linoleico *	SM	2,4 ± 0,2	2,38 ± 0,09	2,42 ± 0,09	2,52 ± 0,09	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2
	SS	1,80 ± 0,07	1,71 ± 0,06	1,6 ± 0,1	1,68 ± 0,06	1,69 ± 0,06	1,69 ± 0,08	1,67 ± 0,04
C 18:3 c9c12c15 α – Linolénico *	SM	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,6 ± 0,4	0,6 ± 0,4
	SS	0,5 ± 0,2	0,32 ± 0,08	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
CLA Linoleico Conjugado	SM	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1 ± 0,1
	SS	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,3	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,3
C 20:0 Araquídico *	SM	0,35 ± 0,08	0,28 ± 0,04	0,31 ± 0,04	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,30 ± 0,06	0,3 ± 0,1
	SS	0,3 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,28 ± 0,09	0,30 ± 0,03	0,28 ± 0,06	0,20 ± 0,08	0,27 ± 0,08
C 20:4 c5c8c11c14 Araquidónico	SM	0,23 ± 0,06	0,20 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,20 ± 0,04
	SS	0,27 ± 0,09	0,19 ± 0,04	0,3 ± 0,1	0,21 ± 0,04	0,188 ± 0,006	0,21 ± 0,02	0,203 ± 0,005
Otros *	SM	0,37 ± 0,04	0,42 ± 0,05	0,41 ± 0,08	0,4 ± 0,1	0,40 ± 0,07	0,40 ± 0,09	0,3 ± 0,1
	SS	0,8 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,3 ± 0,2	0,40 ± 0,08
Ácidos grasos ω 3 *	SM	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,6 ± 0,4	0,6 ± 0,4
	SS	0,5 ± 0,2	0,32 ± 0,08	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Ácidos grasos ω 6 *	SM	3,2 ± 0,1	2,9 ± 0,2	3,0 ± 0,3	3,3 ± 0,1	3,1 ± 0,3	3,2 ± 0,1	3,0 ± 0,2
	SS	2,5 ± 0,1	2,26 ± 0,05	2,1 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,10 ± 0,09	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,2
Relación AG ω 6 / ω 3	SM	7 ± 4	6 ± 4	7 ± 4	7 ± 4	7 ± 3	7 ± 4	7 ± 3
	SS	6 ± 2	7 ± 2	7 ± 3	7 ± 3	9 ± 5	7 ± 3	7 ± 2

* presentan diferencia significativa (P < 0,05) para el método de salado.
 Concentraciones expresadas en valores promedios ± desviación estándar.
 SM: salado en masa; SS: salado superficial



La proporción de ácido mirístico en los quesos de cabra salado en seco encontró diferencia significativa para el método de salado y se determinó que fue de promedio para el tiempo de maduración estudiado de 8,51% para el salado en masa y de 9,82% para el salado superficial, valores acordes a los encontrados por Sert et al. (2014) en queso Tulum que encontraron valores de 9,59% a principios de almacenamiento y 9,70% a los 30 días de almacenamiento.

Para el ácido pentadecílico se encontró diferencia significativa para el método de salado y al igual que para todos los otros ácidos grasos estudiado sin diferencia significativa para el tiempo de maduración. La relación encontrada fue en promedio para el tiempo de maduración estudiado de 0,7% para el salado en masa y de 0,81% para el salado superficial. Valores un poco mayores fueron encontrados en quesos Tulum por Sert et al (2014) que encontraron un rango entre 0,87% y 0,93% al día uno y 30 de maduración respectivamente.

Para el ácido *trans*palmitoleico y el ácido margárico también se encontró diferencia significativa para el método de salado, aunque para el ácido margárico encontramos diferencia significativa en las cuajadas, obteniéndose mayor porcentaje las cuajadas que posteriormente se salaron superficialmente. Los valores promedios durante el período de maduración estudiado fueron de 0,38% para el salado superficial y de 0,45% para el salado en masa y de 0,48% para el salado superficial y de 0,65% para el salado en masa, para ambos ácidos grasos respectivamente. Por lo que durante el salado y la maduración la proporción de ácido margárico se invirtió en los quesos. Sert et al. (2014) encontraron para el ácido margárico en queso Tulum valores intermedios a los encontrados por nosotros, reportando valores de 0,52% y 0,55% para 1 día y 30 días de maduración respectivamente.

Cabe remarcar que no se ha encontrado ningún isómero *trans* del C18:1. En la grasa de los rumiantes, el ácido vaccénico (C18:1 t11) es el más común de los isómeros *trans* del C18:1 que representa entre el 60% y el 80% del total de los AG *trans* (Vargas-Bello-Pérez y Garnsworthy, 2013). El ácido vaccénico se puede convertir en C18:2 c9t11 (ácido linoleico conjugado, CLA) a través de la acción de la esteroil coenzima A desaturasa y se ha estimado que el 20% del ácido vaccénico se puede convertir en CLA en los seres humanos. El CLA ha sido identificado como anticancerígeno, anti-aterosclerótico, antioxidante e inmunomodulador (Young et al., 2013).

Para el ácido linoleico también se encontró influencia para el método de salado, aunque ya en las cuajadas se encontraron diferencias significativas para este ácido graso por lo que no podemos atribuir la diferencia al método de salado (Tabla VI.1). Resultaron con mayor proporción los quesos salados en masa (2,45%) que los quesos salados superficial (1,69%). El valor encontrado para los quesos salados en masa son acordes a lo informado por Prandini et al. (2011) en quesos de cabra fresco (2,44%).

Para el ácido α - Linolénico (ácido graso ω 3) se encontró influencia para el método de salado obteniéndose un valor promedio para el tiempo de maduración estudiado de 0,59% para los quesos salados en masa y de 0,33% para los quesos salados superficial. El valor encontrado para los quesos salado superficial es acorde a lo reportado por Prandini et al. (2011) para quesos de cabra frescos donde también encontraron un 0,33% para este ácido graso.



Para el ácido linoleico conjugado (CLA) no se encontró diferencia significativa para el método de salado. Los valores promedios para el período de maduración estudiado fueron de 0,9% para el salado en masa y de 0,8% para el salado superficial. Estos valores son mayores comparados con Sert et al. (2014) que encontraron 0,46 y 0,48% al día 1 y al mes de maduración respectivamente. Es posible que esto se deba a la alimentación de las cabras con pastos frescos. Cuando la inclusión de pastos aumenta en la dieta total, se observan aumentos lineales en los ácidos grasos α -linolénico, vaccénico, y CLA y disminución en C10:0 y C16:0 (Chilliard et al., 2007). En Jujuy, la producción caprina se basa fundamentalmente en los sistemas de pastoreo. También es posible que exista algún impedimento en la biosíntesis del ácido vaccénico. En efecto, el ácido linoleico y el α -linolénico, procedente de la dieta animal, actúan como sustratos en el rumen para la biosíntesis de CLA. El ácido linoleico primeramente se isomeriza a cis-9, trans-11 CLA por la isomerasa de ácido linoleico y luego es hidrogenado por *Butyrivibrio fibrisolvens* a ácido vaccénico en el rumen (Prandini et al., 2011). Esto podría explicar la no detección de ácido vaccénico y encontrarse un alto porcentaje de CLA en los quesos salados en seco, independientemente del método de salado. No se encontró una relación evidente entre el contenido de CLA y el ácido linoleico, ya que mayor proporción de ácido linoleico se encontró en las muestras de cuajada de los quesos salados en masa (Tabla VI.1) pero esta tendencia no fue encontrada en el contenido de CLA de los quesos salados en masa madurados. Esto indica que el contenido de CLA no está influido por las cantidades iniciales de ácido linoleico en la leche. Estos resultados concuerdan también con los encontrados por Zlatanov et al. (2002) en queso Feta y otros tipos de quesos Griegos.

Los ácidos grasos con mayor proporción encontrados en los quesos de cabra salados en seco fueron el palmítico, esteárico y oleico. Estos ácidos grasos también han sido reportados como los de mayor concentración en quesos de cabra estudiados en diferentes trabajos (Sert et al., 2014; Juan et al., 2015; Aguilar et al., 2014; Cossignani et al., 2014; Mallatou et al., 2003). Para el palmítico no se encontró diferencia estadística entre los métodos de salado estudiados como así tampoco para el tiempo de maduración. La proporción promedio durante los 28 días de almacenamiento fue de 27,3% para el salado en masa y de 28% para el salado superficial, estos valores son similares a los reportados por Juan et al. (2015) en quesos elaborados a partir de leche de cabra, trabajo en el que reportan una proporción de aproximadamente el 30% de los ácidos grasos totales. Para el ácido esteárico y oleico se encontró diferencia significativa para el método de salado, obteniéndose valores mayores para el salado en masa que para el salado superficial. Las proporciones promedios para el período de maduración estudiado fueron de 12,9% para el salado superficial y 14,2% para el salado en masa, para el ácido esteárico y de 24,1% para el salado superficial y de 26,8% para el salado en masa, para el ácido oleico. Estos valores son mayores a los encontrados por Cossignani et al. (2014) para quesos de cabra semiduro en donde informan un porcentaje de 11,3% y 21,5% para los ácidos grasos esteárico y oleico, respectivamente. A su vez, estos valores fueron significativamente mayor que los encontrados en la leche de cabra (9% esteárico, 19,1% oleico) en ese mismo trabajo. La proporción de ácido oleico encontrado en los dos métodos de salado también es mayor a lo informado por Prandini et al (2011) que fue de 19,31% para quesos de cabra fresco.

Durante el período de almacenamiento, las menores concentraciones encontradas en los quesos de cabra salados en seco fueron para los ácidos grasos C18:1 n-7, ácido araquídico y

araquidónico, encontrándose para los dos primeros diferencia estadística entre los dos métodos de salado con mayor concentración para los quesos salado en masa y sin diferencia para el período de maduración estudiado. Los valores promedios para el ácido araquídico durante el período de maduración estudiado fue de 0,29% para el salado superficial y de 0,34% para el salado en masa, valores mucho mayores a los encontrados en quesos Tulum por Sert et al.(2014), que reportaron concentraciones de tan sólo 0,01%.

Independientemente del método de salado utilizado, C10:0, C14:0, C16:0, C18:0 y C18:1 c9 representaron entre el 79,0% y el 82,3% del total de los ácidos grasos y estos resultados están de acuerdo con lo reportado por otros autores para quesos provenientes de diferentes tipos de leche (Partidário et al., 2008; Aguilar et al., 2014).

Para investigar si determinados ácidos grasos se encuentran preferentemente en las muestras de quesos analizadas, los AG individuales se clasificaron arbitrariamente en ácidos grasos de cadena corta (C4:0-C12:0, AGC), media (C13:0-C17:0, AGM) y ácidos grasos de cadena larga (C18:0-C20:4, AGL) y se expresaron como porcentajes del total de AG. Los ácidos grasos denominados "Otros" no se tuvieron en cuenta para esta clasificación ya que está compuesto por ácidos grasos de diferentes largos de cadena carbonada.

De los resultados obtenidos podemos concluir que en los quesos salados superficialmente se encontraron mayor proporción de ácidos grasos de cadena corta y media y en los quesos salados en masa mayor proporción de ácidos grasos de cadena larga. Estos resultados los podemos ver más claramente en la Figura VI.1a-c.

Los AGC, AGM y AGL en los quesos de cabra salados en seco se encontraron en una proporción promedio para el tiempo de maduración estudiado de 14,4%, 38,2% y 46,7% para el salado en masa y de 17,5%, 40,1% y 41,3% para el salado superficial (Figura VI.1a-c). Los menores niveles porcentuales de ácidos de cadena corta en los quesos salados en masa puede deberse a la formación de compuestos volátiles. En efecto, es sabido que los ácidos grasos libres actúan como moléculas precursoras de una serie de reacciones catabólicas que conducen a la producción de compuestos de sabor y aroma, tales como metil cetonas, lactonas, ésteres, alcanos y alcoholes secundarios (Gripon et al., 1991; Fox y Wallace, 1997; McSweeney y Sousa, 2000). González de Llano et al. (1992) encontraron en queso Gamonedo un bajo nivel porcentual relativo de ácidos de cadena corta (C4-C12), debido a la formación de metil cetonas. También puede deberse a la formación de ésteres y tioésteres que son componentes comunes de los compuestos volátiles del queso (Urbach, 1997). Una gran diversidad de ésteres pueden estar presente en el queso (Molimard y Spinnler, 1996). Los ésteres son compuestos muy importantes del sabor y se forman cuando los ácidos grasos libres reaccionan con alcoholes. En general se cree que la producción de ésteres resulta de las reacciones de esterificación entre los ácidos grasos de cadena corta y media y los alcoholes derivados de la fermentación de la lactosa o del catabolismo de aminoácidos (Collins et al., 2003). Aunque en un estudio más reciente el dogma de la síntesis de éster mediante esterificación en el queso ha sido cuestionada (Holland et al., 2005). Se ha demostrado que las esterasas de las bacterias ácido lácticas son las enzimas responsables de la síntesis de éster mediante alcoholólisis en sistemas acuosos (Liu et al., 2003). En particular, la capacidad de las esterasas de *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* y *Lactococcus lactis* de acumular ésteres

en unos sistemas modelos de simulación de condiciones de maduración de queso parmesano fue demostrado por Fenster et al. (2003), por lo que, la presencia de ésteres puede estar relacionada con la actividad esterasa de las bacterias del ácido láctico presentes en el fermento natural.

Los valores promedios de los ácidos grasos de cadena corta y media coinciden con los encontrados en quesos Tulum producidos a partir de leche de cabra (Sert et al., 2014) para 30 días de maduración pero los ácidos grasos de cadena larga fueron mayores a los encontrados en este mismo trabajo en el que los valores varían entre el 30,92% y 38,56% para un tiempo de maduración de 180 días. Esta mayor proporción de ácidos grasos de cadena larga puede deberse a que los quesos fueron elaborados al principio y al final del verano. En efecto, Chávarri et al. (1999) encontraron que la composición de los ácidos grasos de cadena larga aumentaba del 40% al 50% para quesos Idiazábal elaborados en la primavera y en el verano, respectivamente.

De mucha importancia son los ácidos grasos volátiles (C4:0 a C8:0, AGV) y para los mismos encontramos en los quesos salados en masa un 4,5% y para los quesos salados superficial un 4,6% en promedio para el tiempo de maduración estudiado (Figura VI.1d). Prandini et al. (2011) encontraron para quesos de cabra fresco un porcentaje de ácidos grasos volátiles de 7,41%, valores más altos a los encontrados por nosotros. Alonso (1993) observó una ligera disminución de ácidos grasos volátiles durante la maduración de quesos de leche bovina Afuega'l Pitu pero en otros no se encontraron cambios, como se observa en el queso Ras hecho con leche ultrafiltrada (Fontecha et al., 1990a) y también en diferentes quesos de cabra (Fontecha et al., 1990b; Martín-Hernández et al., 1992).

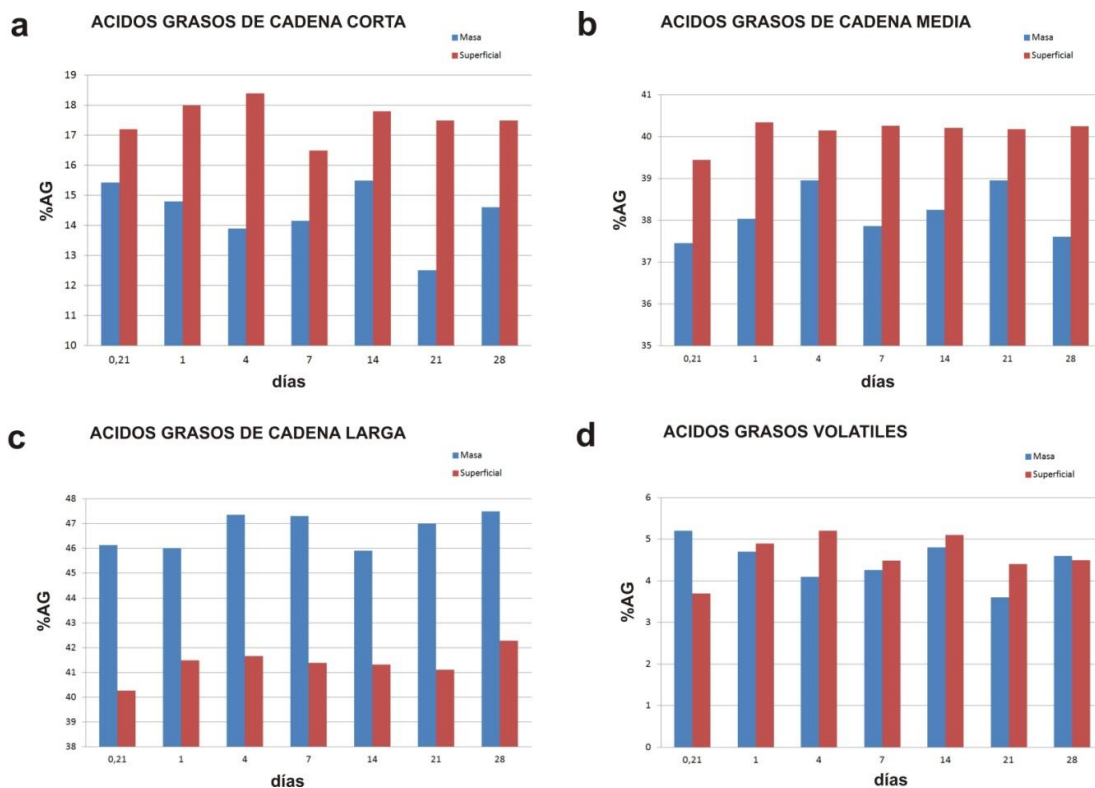


Figura VI.1. Porcentaje de ácidos grasos en los quesos de cabra salados en masa y superficial durante la maduración. **a.** AGC (C4:0-C12:0). **b.** AGM (C13:0-C17:0). **c.** AGL (C18:0-C20:4). **d.** AGV (C4:0 a C8:0).



Cabe hacer notar la importancia cuantitativa de los ácidos grasos de cadena media y larga, que no contribuyen realmente al aroma del queso (Buffa et al., 2001; Freitas y Malcata, 1998). Como fue informado por Park et al. (2007) los quesos de los pequeños rumiantes, como la cabra y la oveja, cuentan con mayor contenido de ácido caproico, caprílico, cáprico y láurico que los quesos de vaca y esta característica se la puede utilizar para detectar mezclas de leches de diferentes especies. Se sabe que los ácidos grasos de cadena corta tienen un efecto muy importante en el aroma del queso (Rahmat y Richter, 1996). En los quesos salado superficial se encontró mayor proporción de estos ácidos grasos debido principalmente a la influencia de los ácidos grasos cáprico y láurico ya que en los ácidos grasos volátiles no se encontraron diferencias en el método de salado (Figura VI.1d). Chávarri et al. (1999) cuando realizaron un análisis sensorial en quesos Idiazábal, los quesos con mayores cantidades de ácidos grasos libres de cadena corta (menores a C12:0) recibieron las calificaciones más altas. Lo que sugiere que estos ácidos grasos juegan un papel importante en las características sensoriales generales.

Es necesario recordar en este momento que el fermento utilizado para la elaboración de los quesos es un fermento natural producido a partir de la leche de cabra utilizada en cada elaboración (ver Materiales y métodos). Dicho fermento es una mezcla de bacterias lácticas y no lácticas nativas de la zona de producción. La composición de dicho fermento no ha sido estudiada hasta el momento por lo que las diferencias encontradas en los perfiles de ácidos grasos pueden deberse a las diferencias de la microbiota presente en dicho fermento.

VI.4.2. Valor nutricional de los ácidos grasos

La proporción de los ácidos grasos saturados fueron en promedio para el período de maduración estudiado de 66,1% para el salado en masa y de 69,8% para el salado superficial (Figura VI.2a), la mayor proporción encontrada en los quesos salados superficial se debe a que los ácidos grasos saturados son en general los ácidos grasos de cadena corta. Para los ácidos grasos insaturados se encontró que los valores promedios fueron de 33,3% para el salado en masa y de 29,2% para los quesos salados superficial (Figura VI.2b), la mayor proporción en los quesos salados en masa se debe a que los ácidos grasos insaturados son en general ácidos grasos de cadena larga.

Las proporciones encontradas para los ácidos grasos saturados coinciden con la proporción encontrada por Sert et al. (2014) y Cossignani et al. (2014) en quesos Tulum elaborados a partir de leche de cabra tratada térmicamente con 30 días de maduración y en quesos de cabra semiduros, respectivamente. La proporción de ácidos grasos insaturados son mayores a los encontrados por estos mismos autores que informan un porcentaje entre el 21 y 22%. Aguilar et al. (2014) encontraron en quesos de cabra un 70,6% de ácidos grasos saturados, porcentaje mayor al obtenido por nosotros y para los ácidos grasos insaturados un porcentaje del 29,22% un valor más cercano al encontrado por nosotros, al igual que Cossignani et al. (2014) que informaron un porcentaje de ácidos grasos insaturados de 30,8% para quesos de cabra semiduros. Algunos AG saturados, tales como los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) se han considerado como componentes que elevan el colesterol, y por lo tanto, han sido asociados con un mayor riesgo de enfermedad cardíaca coronaria (Williams, 2000; Cossignani et al., 2014). Por esta razón, su reducción puede ser considerada como un factor positivo para el

VI. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN QUESOS DE CABRAS SALADOS EN SECO

mantenimiento de una buena salud, mientras falta evidencia científica de que los ácidos grasos saturados de cadena corta como C4:0 - C10:0 tengan un efecto sobre el colesterol en sangre y el riesgo de enfermedad coronaria (Astrup et al., 2011). Por el contrario, la leche con AG insaturados (por ejemplo, CLA) puede reducir el riesgo de enfermedades del corazón y prevenir algunos tipos de cáncer (Mohammadzadeh et al., 2013; Zlatanov et al., 2002). En este estudio, los quesos de cabra salado en masa obtuvieron mayores proporciones de ácidos grasos insaturados que los quesos de cabra salado superficial, por el contrario los quesos salados superficial obtuvieron un porcentaje de 17,2% de AG de cadena \leq C10 y los quesos salados en masa un porcentaje de 14,5% en promedio para los mismos AG, mientras que para el ácido linoleico conjugado (C18:2 c9t11) no se encontró diferencia significativa entre los quesos con un promedio de 0,9% para el salado en masa y de 0,8% para el salado superficial.

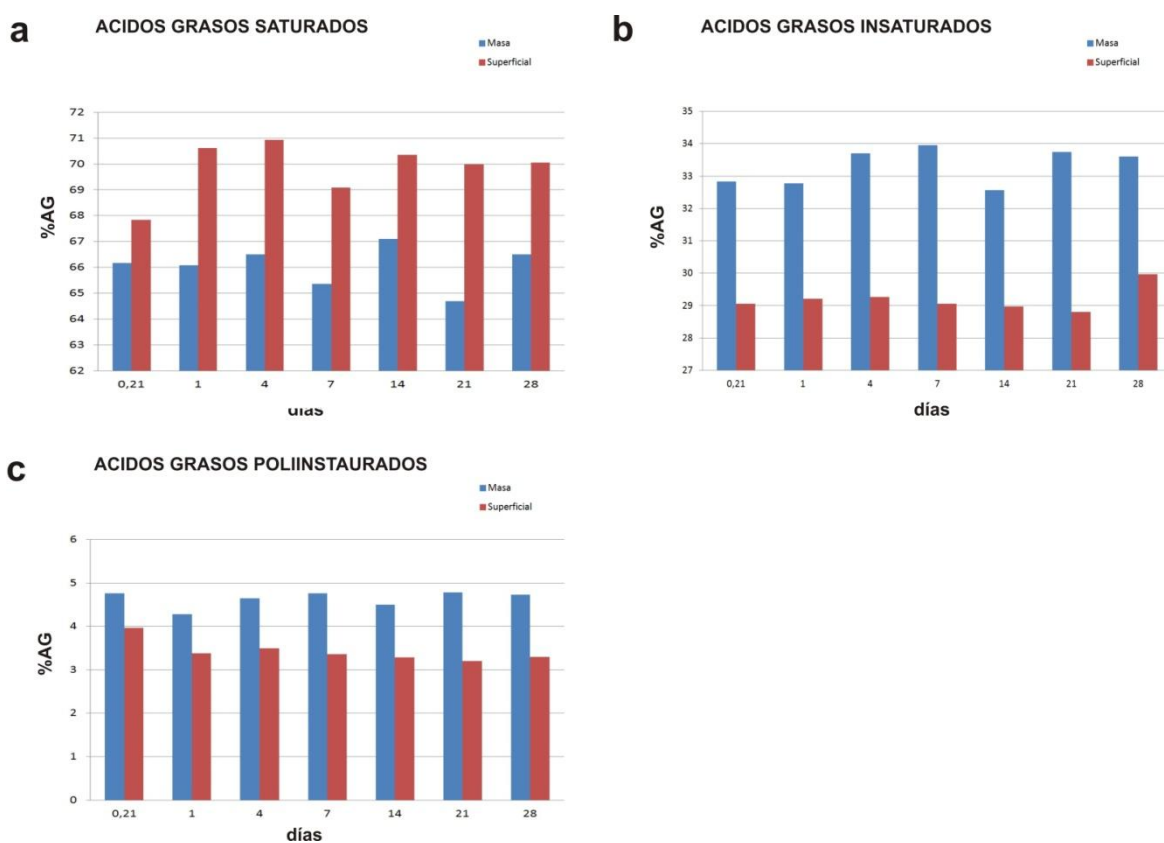
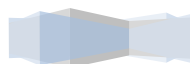


Figura VI.2. Porcentaje de ácidos grasos en los quesos de cabra salados en masa y superficial durante la maduración. **a.** Ácidos grasos saturados. **b.** Ácidos grasos insaturados. **c.** Ácidos grasos poliinsaturados.

El promedio del % de ácidos grasos poliinsaturados para los dos métodos de salados y durante el período de maduración estudiado se puede ver en la Figura VI.2c. Al igual que con los ácidos grasos insaturados totales, los quesos salados en masa obtuvieron un porcentaje promedio mayor (4,6%) frente al 3,4% obtenido para los quesos salados superficial. Prandini et al. (2011) obtuvieron un porcentaje de 4,08% para quesos de cabra fresco, un valor intermedio a los encontrados por nosotros. El mayor porcentaje de estos ácidos grasos en los quesos salados en



masa está de acuerdo con el mayor porcentaje de ácido α -linolénico encontrado en los quesos salados por este método. Los ácidos grasos poliinsaturados no son sintetizados por los tejidos de los rumiantes y su nivel en la leche se ve afectado por la alimentación de los animales. La alimentación de los caprinos en las regiones del norte argentino está basada en el uso de los pastos, sobre todo en la época de verano. Muchos autores han informado que los pastos juegan un papel clave en la mejora tanto de la cantidad de los ácidos grasos poliinsaturados como en la composición (con mayor contenido de $\omega 3$) en la leche de rumiantes (Boland et al., 2001; Chilliard et al., 2000; Griinariy Bauman, 1999).

Las recomendaciones nutricionales están basadas en diferentes relaciones como por ejemplo la relación ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$; estos valores son usados para evaluar el valor nutricional de las grasas para consumo humano (Aguilar et al., 2014). Los valores obtenidos para la relación AG $\omega 6/AG \omega 3$ no presentaron diferencias significativas para el método de salado (Tabla VI.2) y están dentro de los valores recomendados por la Organización Mundial de la Salud que aconseja una relación $\omega 6:\omega 3$ de 5-10:1 (World Health Organization, 1993).

Desde el punto de vista de la salud humana, en este estudio podríamos decir que los quesos de cabra elaborados con leche de los valles jujeños salados en seco son recomendables, esto es soportado por el valor intermedio encontrado para la relación ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$ (Tabla VI.2). Los ácidos grasos $\omega 3$, encontrados en mayor proporción en los quesos salados en masa juegan un rol importante en la prevención y control de las enfermedades arteriales, hipertensión, diabetes, artritis, enfermedades autoinmunes y cáncer (Simopoulos, 2000).

También es importante remarcar que no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de CLA, aunque si se encontraron diferencias significativas en el porcentaje del ácido linoleico (Tabla VI.2). Esto sugiere que los factores que intervienen en el proceso de fabricación del queso y su maduración, no afectan el contenido de CLA en la grasa láctea, como fue también reportado por Bisig et al. (2007) y Prandini et al. (2011). También la adición de fermento natural a la leche en las primeras etapas del proceso de fabricación del queso parece no tener ningún efecto sobre el nivel de CLA, de acuerdo también con lo informado por Gnädig et al. (2004). Estos autores, en su estudio sobre la influencia del procesamiento del queso Emmental en el contenido de CLA, investigaron el efecto de las bacterias de ácido propiónico (PAB) y no encontraron diferencias del nivel de CLA en quesos elaborados a partir de leche microfiltrada con dos cepas diferentes de *Propionibacterium freudenreichii* y quesos obtenidos sin PAB, ambos producidos bajo condiciones normales de procesamiento para queso Emmental. La posibilidad de aumentar el contenido de CLA de productos lácteos con cultivos microbianos ha sido estudiado por varios autores (Alonso et al., 2003; Ogawa et al., 2005; Song et al., 2005). Las bifidobacterias, propionibacterias y bacterias del ácido láctico han demostrado ser capaces de producir CLA. Sin embargo, es importante subrayar que estos estudios se llevaron a cabo sobre cepas bacterianas seleccionadas en virtud de condiciones controladas en medios de laboratorio o sistemas modelo, por ejemplo, uso de células lavadas cultivadas en un medio suplementado con ácido linoleico en forma libre como sustrato; tratamiento previo del sustrato con detergente o albúmina de manera que se disperse bien en la mezcla de reacción y esté disponible para las bacterias del ácido láctico; reacciones llevadas a cabo bajo condiciones anaeróbicas para evitar la oxidación del ácido linoleico.

En general, se encontraron en los quesos de cabra salados en seco una alta proporción de ácidos grasos de cadena larga e insaturados. También es importante remarcar la importancia de conocer el perfil de los ácidos grasos en la materia prima ya que se ha encontrado por ejemplo, que las proporciones de AG C6:0 a C18:3 en queso Cheddar parecen ser similares a las de la grasa de leche y sin embargo, el ácido butanoico (C4:0) se produce a una mayor concentración relativa en el queso que en la grasa de leche (Bills y Day, 1964), lo que sugiere su liberación selectiva por las lipasas presentes en el queso o su síntesis por la microflora del queso (Bills y Day, 1964; Fox et al., 2000; McSweeney y Sousa, 2000). Por lo tanto, la composición de AG de la materia prima podría ayudar a la comprensión de los diferentes perfiles encontrados en estos quesos.

VI.5. CONCLUSIONES

En el presente capítulo, han sido informados los datos completos de la composición de los AG de los lípidos de los quesos de cabra salados en seco madurados por 4 semanas.

La composición de ácidos grasos totales en los quesos durante el período de estudio indica que no hubo alteraciones significativas durante la maduración.

Los ácidos grasos encontrados en mayor proporción en los quesos de cabra salados en seco fueron los ácidos palmítico, oleico (*cis* 9) y esteárico. Los ácidos grasos de cadena corta y media fueron encontrados en mayor proporción en los quesos salados superficial así como también los ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos de cadena larga e insaturados fueron encontrados en mayor proporción en los quesos salados en masa.

Los resultados demuestran que el tipo de salado así como también otras variables tecnológicas no controladas en este estudio (por ejemplo, tipo de fermento utilizado) tienen una marcada influencia sobre las cantidades relativas de ácidos grasos lo que conlleva a diferencias significativas en los perfiles de AG, pero no en el nivel de CLA. Esto sugiere que los factores involucrados en el proceso de fabricación del queso no afectan el contenido de CLA en la grasa láctea. Sin embargo, estos factores podrían influir en los procesos lipolíticos que se producen durante la transformación de leche en queso, determinando variaciones en la composición de ácidos grasos. Por lo que sería de utilidad poder determinar los ácidos grasos libres en estos quesos salados por dos metodologías diferentes.

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que algunos índices nutricionales de los quesos de cabra fueron favorables en una perspectiva de la salud. Estos resultados subrayan la importancia del queso de cabra como una fuente natural de CLA y de ácidos grasos beneficiosos para la salud humana.

Los resultados obtenidos fueron útiles para comprender mejor el proceso de maduración de los quesos de cabra salados en seco, dada la escasa información disponible en este sentido. Sin embargo, estos resultados deben ser comparados con los obtenidos en estudios complementarios (análisis sensorial, análisis microbiológico del fermento, determinación de ácidos grasos libres, de compuestos volátiles, etc.), que son temas para futuro desarrollo en nuestro grupo de investigación.



VI.6. BIBLIOGRAFÍA

Addis, M.; Piredda, G.; Pes, M.; Di Salvo, R.; Scintu, M.F.; Pirisi, A. (2005a). Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano cheese. *International Dairy Journal*, 15, 563–569.

Addis, M.; Pirisi, A.; Di Salvo, R.; Podda, F.; Piredda, G. (2005b). The influence of the enzymatic composition of lamb rennet paste on some properties of experimentally produced PDO Fiore Sardo cheese. *International Dairy Journal*, 15, 1271–1278.

Aenor (1991). Asociación española de normalización. Norma UNE 55-037.73 Materias grasas, determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa. Catálogo de normas UNE, Madrid.

Aganga, A. A.; Amarteifio, J. O.; Nkile, N. (2002). Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(5), 533-543.

Aguilar, C.; Toro-Mujica, P.; Vargas-Bello-Pérez, E.; Vera, R.; Ugalde, C.; Rodríguez, S.; Briones, I. (2014). A comparative study of the fatty acid profiles in commercial sheep cheeses. *Grasas y Aceites*, 65(4), e048.

Alonso, L. (1993). Fat modification in Afuegal'l Pitu cheese during ripening by capillary gas chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(10), 1035-1037.

Alonso, L.; Cuesta, E.P.; Gilliland, S.E. (2003). Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. *Journal of Dairy Science*, 86, 1941–1946.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL (AOAC) (1995). *Official Methods of Analysis*, 16th Ed., AOAC, Gaithersburg, MD.

Astrup, A.; Dyerberg, J.; Elwood, P.; Hermansen, K.; Hu, F. B.; Jakobsen, M. U.; Kok, F. J.; Krauss, R. M.; Lecerf, J. M.; LeGrand, P.; Nestel, P.; Riserus, U.; Sanders, T.; Sinclair, A.; Stender, S.; Tholstrup, T.; Willett, W. C. (2011). The role of reducing intakes of saturated fat in the prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand in 2010? *The American journal of clinical nutrition*, 93(4), 684-688.

Barzaghi, S.; Davoli, E.; Rampilli, M.; Contarini, G. (1997). Lipolysis in Provolone cheese: effect of rennet-paste. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 48, 146–156.

Bernard, L.; Leroux, C.; Chilliard, Y. (2008). Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. *In: Bioactive components of milk*, pp. 67-108. Springer, New York.

Bessa, R. J. B.; Santos-Silva, J.; Ribeiro, J. M. R.; Portugal, A. V. (2000). Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*, 63(3), 201-211.

Bills, D. D.; Day, E. A. (1964). Determination of the major free fatty acids of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 47, 733–738.

Bisig, W.; Eberhard, P.; Collomb, M.; Rehberger, B. (2007). Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products—a review. *Lait*, 87, 1–19.

Blasi, F.; Montesano, D.; De Angelis, M.; Maurizi, A.; Ventura, F.; Cossignani, L.; Simonetti, M. S.; Damiani, P. (2008). Results of stereospecific analysis of triacylglycerol fraction from donkey, cow, ewe, goat and buffalo milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(1), 1-7.

Boland, M.; MacGibbon, A.; Hill, J. (2001). Designer milks for the New Millennium. *Livestock Production Science*, 72, 99–109.

Buffa, M.; Guamis, B.; Pavia, M.; Trujillo, A. J. (2001). Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11, 175–179.

Chávarri, F.; Bustamante, M. A.; Santisteban, A.; Virto, M.; Barron, L. J. R.; de Renobales, M. (1999). Changes in free fatty acids during ripening of Idiazabal cheese manufactured at different times of the year. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 885-890.

Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Mansbridge, R.M.; Doreau, M. (2000). Ruminant milk fatplasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales de Zootechnie*, 49, 181–205.

Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Bernard, L.; Rouel, J.; Doreau, M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science Technology*, 109, 828-855.

Collins, Y. F.; McSweeney, P. L.; Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841-866.

Cossignani, L.; Giua, L.; Urbani, E.; Simonetti, M. S.; Blasi, F. (2014). Fatty acid composition and CLA content in goat milk and cheese samples from Umbrian market. *European Food Research and Technology*, 239(6), 905-911.

Fenster, K.; Rankin, S.; Steele, J. (2003). Accumulation of short n-chain ethyl esters by esterases of lactic acid bacteria under conditions simulating ripening parmesan cheese. *Journal of Dairy Science*, 86, 2818–2825.

Fontecha, J.; Amigo, L.; de la Fuente, M. A.; Juarez, M.; Ramos, M.; El-Shikh, M.; El-Shibiny, S. (1990a). Ripening changes in Ras cheese prepared from ultrafiltered milk. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 191(4-5), 310-312.

Fontecha, J.; Pelaez, C.; Juarez, M.; Requena, T.; Gómez, C.; Ramos, M. (1990b). Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *Journal of Dairy Science*, 73(5), 1150-1157.



Fox, P. F.; Guinee, T. P.; Cogan, T. M.; McSweeney, P. L. H. (2000). Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc.

Fox, P. F.; Wallace, J. M. (1997). Formation of flavour compounds in cheese. *Advances in Applied Microbiology*, 45, 17–85.

Freitas, A.C.; Malcata, F.X. (1998). Lipolysis in Picante cheese: influence of milk type and ripening time on free fatty acid profile. *Lait*, 78, 251–258.

Gnädig, S.; Chamba, J.F.; Perreard, E.; Chappaz, S.; Chardigny, J.M.; Rickert, R.; Steinhart, H.; Sébédio, J.L. (2004). Influence of manufacturing conditions on the conjugated linoleic acid content and the isomer composition in ripened French Emmental cheese. *Journal of Dairy Research*, 71, 367–371.

González de Llano, D.; Ramos, M.; Rodríguez, A.; Montilla, A.; Juárez, M. (1992). Microbiological and physicochemical characteristics of Gamonedo blue cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 2(2), 121-135.

Griinari, J.M.; Bauman, D.E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *In: Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J. (Eds.), Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. AOAC Press, Champaign, IL, pp. 180–200.

Gripon, J. C.; Monnet, V.; Lamberet, G.; Desmazeaud, M. J. (1991). Microbial enzymes in cheese ripening. *In: Food enzymology*. P. F. Fox (Ed.), New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc., pp. 131–168.

Holland, R.; Liu, S-Q.; Crow, V. L.; Delabre, M. L.; Lubbers, M.; Bennett, M.; Norris, G. (2005). Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavour: Milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification. *International Dairy Journal*, 15, 711–718.

Juan, B.; Quevedo, J. M.; Zamora, A.; Guamis, B.; Trujillo, A. J. (2015). Lipolysis of cheeses made from goat milk treated by ultra-high pressure homogenization. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1034-1038.

Kelly, G. S. (2001). Conjugated linoleic acid: a review. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 6(4), 367-382.

Liu, S-Q.; Holland, R.; Crow, V. L. (2003). Ester synthesis in an aqueous environment by *Streptococcus thermophilus* and other dairy lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(1), 81–88.

Mallatou, H.; Pappa, E.; Massouras, T. (2003). Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 13(2), 211-219.

Martín-Hernández, M. C.; Juárez, M.; Ramos, M. (1992). Biochemical characteristics of three types of goat cheese. *Journal of dairy science*, 75(7), 1747-1752.

McSweeney, P. L. H.; Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80, 293–324.

Mohammadzadeh, M.; Faramarzi, E.; Mahdavi, R.; Nasirimotlagh, B.; Jafarabadi, M. A. (2013). Effect of conjugated linoleic acid supplementation on inflammatory factors and matrix metalloproteinase enzymes in rectal cancer patients undergoing chemoradio therapy. *Integrative cancer therapies*, 12(6), 496-502.

Molimard, P.; Spinnler, H. E. (1996). Review: Compounds involved in the flavour of surface mould-ripened cheeses: Origins and properties. *Journal of Dairy Science*, 79, 169–184.

Ogawa, J.; Kishino, S.; Ando, A.; Sugimoto, S.; Mihara, K.; Shimizu, S. (2005). Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100 (4), 355–364.

Park, Y. W.; Juárez, M.; Ramos, M.; Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*, 68(1), 88-113.

Partidário, A. M.; Ribeiro, J. C.; Prates, J. A. (2008). Fatty acid composition and nutritional value of fat in three PDO ewe's milk Portuguese cheeses. *Dairy Science and Technology*, 88(6), 683-694.

Prandini, A.; Sigolo, S.; Piva, G. (2011). A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 55-61.

Proyecto de Asistencia Integral al para el Agregado de Valor en Agroalimentos (PROCAL) (2011). Caracterización del sector caprino en Argentina. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/procal/estudios/04_Caprino/SectorCaprino_Argentina.pdf. Última consulta: 04/08/15.

Rahmat, A.; Richter, R. (1996). Formation of volatile free fatty acids during ripening of Cheddar-like goat cheese. *Journal of Dairy Science*, 79, 717–724.

Ribeiro, A. C.; Ribeiro, S. D. A. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, 89(2), 225-233.

Rodríguez-Alcalá, L. M.; Harte, F.; Fontecha, J. (2009). Fatty acid profile and CLA isomers content of cow, ewe and goat milks processed by high pressure homogenization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(1), 32-36.

Sanz Sampelayo, M. S.; Perez, L.; Alonso, J. M.; Amigo, L.; Boza, J. (2002). Effects of concentrates with different contents of protected fat rich in PUFAs on the performance lactating Granadina goats: Part II. Milk production and composition. *Small Ruminant Research*, 43(2), 141-148.

Sert, D.; Akin, N.; Aktumsek, A. (2014). Lipolysis in Tulum cheese produced from raw and pasteurized goats' milk during ripening. *Small Ruminant Research*, 121(2), 351-360.

Simopoulos, A. P. (2000). Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry science*, 79(7), 961-970.



- Song, Y.S.; Kang, S.W.; Oh, D.K.; Rho, Y.T.; Hong, S.I.; Kim, S.W. (2005). Bioconversion of linoleic acid to conjugated linoleic acid by *Bifidobacterium breve*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10, 357–361.
- Toro-Mujica, P.; García, A.; Gómez-Castro, A. G.; Acero, R.; Perea, J.; Rodríguez-Estévez, V.; Aguilar, C.; Vera, R. (2011). Technical efficiency and viability of organic dairy sheep farming systems in a traditional area for sheep production in Spain. *Small Ruminant Research*, 100(2), 89-95.
- Urbach, G. (1997). The flavour of milk and dairy products: II. Cheese: Contribution of volatile compounds. *International Journal of Dairy Technology*, 50, 79–89.
- Vargas-Bello-Pérez, E.; Garnsworthy, P. C. (2013). Trans fatty acids and their role in the milk of dairy cows. *Ciencia e Investigación Agraria*, 40(3), 449-473.
- Vera, R. R.; Aguilar, C.; Lira, R. (2009). Differentiation of sheep milk and cheese based on quality and composition. *Ciencia e Investigación Agraria*, 36(3), 307-328.
- Williams, C. M. (2000). Dietary fatty acids and human health. In *Annales de zootechnie*, 49(3), 165-180.
- World Health Organization. (1993). Fats and oils in human nutrition: report of a joint expert consultation. *FAO food and nutrition paper*, 57, 157.
- Young, J. F.; Therkildsen, M.; Ekstrand, B.; Che, B. N.; Larsen, M. K.; Oksbjerg, N.; Stagsted, J. (2013). Novel aspects of health promoting compounds in meat. *Meat science*, 95(4), 904-911.
- Zlatanos, S.; Laskaridis, K.; Feist, C.; Sagredos, A. (2002). CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chemistry*, 78(4), 471-477.



VII. CONCLUSIONES Y **RECOMENDACIONES**

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

VII.1. CONCLUSIONES FINALES

El modelo estadístico utilizado para la evaluación de la distribución de agua y sal en los quesos salados superficialmente permitió determinar que el equilibrio en la distribución de sal se alcanza a los 35 días desde su elaboración, mientras que el contenido de agua tiene su distribución más homogénea durante la primer semana de maduración, comenzando a partir de ese momento una etapa de deshidratación de los quesos.

Para el salado seco en masa los menores coeficientes de variación global para la concentración de humedad se obtuvieron hasta las 24 h de maduración. Desde este tiempo y hasta las dos semanas de maduración se pudo observar un perfil de deshidratación que se profundizó a partir de este tiempo y hasta el final del período de maduración estudiado. Con respecto a la distribución de sal en los quesos salados por este método el coeficiente de variación fue disminuyendo desde el comienzo del período de maduración estudiado y hasta las 2 semanas.

Los quesos salados en masa presentaron un perfil de deshidratación desde un estadio más temprano de maduración que los quesos salados superficialmente, esto puede deberse a que en el método de salado en masa los gradientes de concentración de NaCl no favorecen la difusión de agua desde el interior del queso hacia el exterior, por lo que prácticamente durante todo el proceso de maduración la transferencia de agua de la superficie del queso hacia el aire de la cámara fue la predominante.

Es necesario tener en cuenta que en esta tesis no se trabajaron con quesos modelos sino con metodologías y procesos de producción de características similares a las producciones locales por lo que es necesario considerar que la concentración de proteína o grasa en leche caprina con destino a la producción de queso artesanal en la provincia de Jujuy no es estandarizada antes de la fabricación del queso. Por lo tanto, cuando la leche no ha sido estandarizada, la influencia de la época del año o, más bien, la etapa de la lactancia se debe tener en consideración cuando se estudia el papel de otras variables.

Los resultados obtenidos se mostraron útiles para comprender mejor el proceso de maduración de los quesos de cabra salados en seco, dada la escasa información disponible. Sin embargo, estos resultados deben ser contrastados con los obtenidos en estudios complementarios (análisis sensorial, análisis microbiológico del fermento, determinación de ácidos grasos libres, de compuestos volátiles, etc.), que son temas para futuro desarrollo en nuestro grupo de investigación.



VII.2. RECOMENDACIONES

1. Debido a los resultados obtenidos en los capítulos III y IV para los quesos salados superficialmente y salados en masa, respectivamente, se recomienda aumentar la frecuencia de volteo durante las 5 primeras horas posteriores a la entrada a la cámara, proponiendo voltear los quesos cada media hora con el objeto de minimizar el efecto gravitatorio sobre la distribución de agua y sal que produce una mayor concentración de agua y NaCl en la cara inferior de los quesos que en la superior, durante las primeras horas de maduración para ambos métodos de salado.
2. En concordancia con los resultados presentados en el capítulo III se propone ubicar los quesos también de forma vertical en la cámara de maduración para ayudar con la distribución homogénea de sal en el eje horizontal para los quesos salados superficialmente, ya que se encontró que la distribución horizontal del NaCl siguió produciéndose hasta el final del período de maduración estudiado.
3. En base a los resultados mostrados en el capítulo III se recomienda madurar los quesos salados superficialmente durante 2 semanas en cámara de maduración a 10°C y 90% de humedad relativa, lo que permitirá obtener un equilibrio de concentraciones aceptable en los quesos, en lo que respecta a la distribución de sal y agua.
4. Debido a los resultados presentados en el capítulo IV se considera necesario envasar los quesos salados en masa, con material de baja permeabilidad al vapor de agua, a partir de la segunda o tercer semana de maduración, con el objetivo de evitar una pérdida de peso excesiva y favorecer el equilibrio de humedad en la masa de los mismos.
5. Se evidencia en los resultados del capítulo V una variación significativa en la concentración de las fracciones de caseínas en las cuajadas para diferentes meses dentro de un mismo ciclo de lactancia y para un mismo mes entre ciclos de lactancia por lo que se recomienda controlar la concentración inicial de las fracciones de caseínas o al menos la concentración inicial de proteína en la materia prima para poder disminuir el ruido que proporciona para evaluar más eficientemente la influencia del método de salado en la proteólisis para futuros trabajos.
6. En base a los resultados obtenidos en los capítulos V y VI se considera necesario utilizar fermentos nativos de concentración conocida para profundizar la evaluación de parámetros fisicoquímicos en los quesos de cabra de la región en futuros trabajos.
7. Se propone realizar estudios complementarios (análisis sensorial, análisis microbiológico del fermento, determinación de ácidos grasos libres, de compuestos volátiles, etc.) para comprender mejor el proceso de maduración de los quesos de cabra salados en seco.



