

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVOLUCIÓN DE LOS ATRIBUTOS SENSORIALES DE QUESO OAXACA
DURANTE SU VIDA ÚTIL Y CARACTERIZACIÓN SENSORIAL ANALÍTICO-
AFECTIVA DE QUESO OAXACA COMERCIAL”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA

M. en C.Q. JOSÉ ROGELIO SANDOVAL COPADO

COMITÉ TUTORIAL

Dr. Juan Orozco Villafuerte
Dra. María de los Ángeles Colín Cruz
Dra. Angélica Espinoza Ortega

Diciembre, 2019

RESUMEN

El queso Oaxaca se elabora en todo el país, de forma artesanal e industrial mediante procesos que se adecuan a las condiciones de los productores. La variabilidad en los procesos conduce a la obtención de quesos con características fisicoquímicas, microbiológicas y de estructura muy heterogéneas. Además, las características sensoriales de este queso han sido poco estudiadas, lo cual limita su tipificación completa, así como su diferenciación con respecto a la preferencia de los consumidores.

En una investigación previa, se definió un perfil sensorial de queso Oaxaca analizando quesos elaborados experimentalmente en condiciones controladas. La definición de este perfil, se hizo a partir de los compuestos químicos volátiles presentes en el queso, y de los atributos sensoriales descritos por un panel de jueces entrenados.

Durante la vida útil del queso (22 días en refrigeración) ocurren cambios en todas sus características como consecuencia de la actividad enzimática. En el aspecto sensorial se producen transformaciones en la apariencia, la textura y en los atributos olfato-gustativos; algunos de éstos pueden ser desagradables al final del almacenamiento. La evaluación de los atributos sensoriales durante la vida útil del queso Oaxaca permitirá conocer en qué momento los cambios impactan en la calidad. En relación al queso Oaxaca comercial, es importante identificar los atributos sensoriales presentes para contrastarlos con aquellos descritos en el perfil sensorial preestablecido. Los atributos sensoriales definidos en los quesos (experimentales y comerciales), en conjunto con las características fisicoquímicas y microbiológicas ya definidas en las normas, integrarán una caracterización adecuada para coadyuvar en la regulación de la comercialización de este queso.

Por tanto, el objetivo del presente proyecto fue conocer cómo evolucionan (durante el almacenamiento) los atributos sensoriales de quesos Oaxaca obtenidos en condiciones controladas, identificar los atributos sensoriales de quesos comerciales (artesanales e industriales) y conocer el comportamiento afectivo en todos los quesos para establecer relaciones entre los diferentes datos obtenidos (fisisicoquímicos, microbiológicos, instrumentales y sensoriales) que permitan explicar la variabilidad de los quesos Oaxaca elaborados en diferentes Estados de la República Mexicana.

Los resultados mostraron que a pesar de la heterogeneidad que existe entre los quesos Oaxaca elaborado en México fue posible proponer un perfil sensorial que permitió evaluar en el tiempo las características sensoriales de todos los quesos estudiados, obteniéndose correlaciones positivas con parámetros fisicoquímicos e instrumentales, así como con la información generada con los consumidores.

ABSTRACT

Oaxaca cheese is made throughout the country, in an artisanal and industrial way through processes that adapt to the conditions of the producers. The variability in the processes leads to the obtaining of cheeses with very heterogeneous physicochemical, microbiological and structure characteristics. In addition, the sensory characteristics of this cheese have been poorly studied, which limits its complete typing, as well as its differentiation with respect to consumer preference.

In a previous investigation, a sensory profile of Oaxaca cheese was defined by analyzing experimentally prepared cheeses under controlled conditions. The definition of this profile was made from the volatile chemical compounds present in the cheese, and the sensory attributes described by a panel of trained judges.

During the shelf life of the cheese (22 days in refrigeration) changes occur in all its characteristics as a result of the enzymatic activity. In the sensory aspect, there are transformations in the appearance, texture and olfactory-gustatory attributes; Some of these may be unpleasant at the end of storage. The evaluation of the sensory attributes during the useful life of Oaxaca cheese will allow knowing at what moment the changes impact on the quality. In relation to commercial Oaxaca cheese, it is important to identify the sensory attributes present to contrast them with those described in the preset sensory profile. The sensory attributes defined in cheeses (experimental and commercial), together with the physicochemical and microbiological characteristics already defined in the standards, will integrate an appropriate characterization to help regulate the marketing of this cheese.

Therefore, the objective of the present project was to know how the sensory attributes of Oaxaca cheeses obtained under controlled conditions evolve (during storage), identify the sensory attributes of commercial cheeses (artisanal and industrial) and know the affective behavior in all cheeses for establish relationships between the different data obtained (physicochemical, microbiological, instrumental and sensory) that explain the variability of Oaxaca cheeses made in different states of the Mexican Republic.

The results showed that despite the heterogeneity that exists between Oaxaca cheeses made in Mexico, it was possible to propose a sensory profile that allowed the sensorial characteristics of all the cheeses studied to be evaluated over time, obtaining positive correlations with physicochemical and instrumental parameters, as well as with the information generated with consumers.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Queso Oaxaca	3
1.1.1. Estudios realizados en queso Oaxaca.....	3
1.2. Microbiología del queso	6
1.2.1. Factores que influyen en el crecimiento de microorganismos en el queso	7
1.2.1.1. Humedad.....	7
1.2.1.2. Contenido de sal	8
1.2.1.3. pH y ácidos orgánicos	9
1.2.1.4. Temperatura de maduración.....	9
1.2.1.5. Potencial redox	9
1.2.1.6. Nitrato.....	10
1.3. Bacterias ácido lácticas (BAL).....	10
1.3.1. <i>Lactococcus lactis</i>	14
1.3.2. <i>Streptococcus thermophilus</i>	19
1.4. Microbiota secundaria	22
1.4.1. Bacterias ácido lácticas no adicionadas (NSBAL).....	22
1.4.2. Bacterias ácido propiónicas (PAB)	23
1.5. Cambios durante la maduración del queso	24
1.5.1. Metabolismo de lactosa, lactato y citrato.....	24
1.5.2. Lipólisis y metabolismo de los ácidos grasos.....	28
1.5.3. Proteólisis	31
1.5.4. Catabolismo de aminoácidos.....	36
1.6. Características sensoriales del queso	37

1.6.1.	Perfil sensorial en quesos.....	37
1.7.	Características sensoriales y propiedades físicas de los quesos de pasta hilada no madurados	40
1.7.1.	Textura.....	41
1.7.2.	Color.....	43
1.7.3.	Fundido.....	44
1.7.4.	Sabor.....	45
JUSTIFICACIÓN		46
HIPÓTESIS		47
OBJETIVOS		47
2.	MATERIALES Y MÉTODO.....	49
2.1.	Obtención de quesos experimentales	49
2.2.	Análisis realizados en los quesos experimentales	50
2.2.1.	Fisicoquímicos.....	50
2.2.2.	Microbiológicos	50
2.2.3.	Instrumentales.....	50
2.2.4.	Análisis sensorial.....	53
2.3.	Monitoreo de cambios en las características de los quesos Oaxaca experimentales durante su vida útil	54
2.3.1.	Análisis fisicoquímicos	54
2.3.2.	Análisis microbiológicos	54
2.3.3.	Análisis instrumentales.....	54
2.3.4.	Análisis sensorial.....	54
2.4.	Evaluación de queso Oaxaca comercial (artesanal e industrial)	55
2.4.1.	Análisis fisicoquímicos	55
2.4.2.	Análisis microbiológicos	55
2.4.3.	Análisis instrumentales.....	55
2.4.4.	Análisis sensorial.....	55
2.5.	Selección y entrenamiento del panel de Evaluación sensorial.....	55
2.5.1.	Convocatoria y preselección de jueces	55
2.5.2.	Selección de jueces.....	56
2.6.	Entrenamiento de Jueces Sensoriales	63

2.6.1.	Definición de la “Voz” del Producto	63
2.6.2.	Fase Visual	63
2.6.3.	Fase olfativa	65
2.6.4.	Fase bucal	67
2.6.5.	Fase de Retroalimentación	68
2.6.6.	Fase de Pruebas Definitivas	71
2.6.7.	Validación del Entrenamiento	71
2.7.	Tratamiento estadístico de los datos	71
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
3.1.	Características fisicoquímicas de los quesos Oaxaca estudiados	73
3.2.	Proteólisis en los quesos Oaxaca experimentales	78
3.3.	Microbiota presente en los quesos estudiados	79
3.4.	Propiedades físicas de los quesos	84
3.4.1.	Textura	84
3.4.2.	Color	88
3.5.	Validación del método de cuantificación de VOC’s para queso Oaxaca	92
3.5.1.	Condiciones óptimas de extracción de VOC’s	92
3.5.2.	Compuestos orgánicos volátiles identificados en el queso Oaxaca	93
3.5.3.	Compuestos orgánicos volátiles cuantificados	94
3.5.4.	Valor de actividad aromática (Odor Activity Value, OAV)	97
3.6.	Perfil sensorial del queso Oaxaca	104
3.6.1.	Quesos experimentales	104
3.6.2.	Quesos artesanales	118
3.6.3.	Quesos industriales	126
3.7.	Mapeo interno de preferencia	130
3.8.	Mapeo externo de preferencia	132
3.9.	Análisis multifactorial (MFA)	133
3.9.1.	Atributos aromáticos	133
3.9.2.	Atributos visuales	135
3.9.3.	Atributos de textura	136
3.9.4.	Atributos sensoriales y su relación con parámetros fisicoquímicos	137

3.10.	Perfil sensorial del queso Oaxaca elaborado en México	138
4.	CONCLUSIONES.....	141
5.	REFERENCIAS	142

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. TAXONOMÍA Y CARACTERÍSTICAS DISTINTIVAS DE BAL USADAS EN LA ELABORACIÓN DE QUESO.....	11
TABLA 2. PRINCIPALES RASGOS QUE CARACTERIZAN A LACTOCOCCUS LACTIS SSP. LACTIS Y LC. LACTIS SSP. CREMORIS.....	14
TABLA 3. DESCRIPTOR DE SABOR Y VALORES DE UMBRAL PARA AMINOÁCIDOS.....	35
TABLA 4. PRUEBAS APLICADAS EN LA SELECCIÓN DE JUECES SENSORIALES.....	56
TABLA 5. COMPUESTOS, NOTAS Y EVOCACIONES UTILIZADAS EN LA PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DE AROMAS.....	58
TABLA 6. SOLUCIONES PARA IDENTIFICACIÓN DE GUSTOS BÁSICOS.....	58
TABLA 7. SOLUCIONES PARA PRUEBA DE ORDENAMIENTO DE GUSTOS BÁSICOS.....	59
TABLA 8. CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA PRUEBA DE COMPARACIÓN PAREADA.....	60
TABLA 9. ORDEN DE PRESENTACIÓN DE MUESTRAS PARA COMPARACIÓN PAREADA.....	60
TABLA 10. CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA PRUEBA DÚO-TRÍO.....	60
TABLA 11. ORDEN DE PRESENTACIÓN DE MUESTRAS PARA PRUEBA DÚO-TRÍO.....	60
TABLA 12. CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA PRUEBA TRIANGULAR.....	61
TABLA 13. ORDEN DE PRESENTACIÓN DE MUESTRAS PARA PRUEBA TRIANGULAR.....	61
TABLA 14. CARACTERÍSTICAS VISUALES EVALUADAS EN LOS QUESOS DURANTE LA ETAPA DE ENTRENAMIENTO.....	64
TABLA 15. CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES OLORES QUE SE PUEDEN PERCIBIR EN QUESOS.....	65
TABLA 16. SUSTANCIAS QUÍMICAS UTILIZADAS PARA IDENTIFICAR AROMAS DURANTE EL ENTRENAMIENTO.....	66
TABLA 17. PRODUCTOS DE REFERENCIA EMPLEADOS PARA EVALUAR ATRIBUTOS DE TEXTURA BUCAL.....	67
TABLA 18. SOLUCIONES DE REFERENCIA EMPLEADAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GUSTOS BÁSICOS.....	68
TABLA 19. MUESTRAS DE REQUESÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GUSTOS BÁSICOS.....	68
TABLA 20. ATRIBUTOS EVALUADOS EN LA FASE DE RETROALIMENTACIÓN.....	69
TABLA 21. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES.....	73
TABLA 22. CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS DE QUESOS OAXACA ARTESANALES ELABORADOS EN TRES REGIONES DE MÉXICO ..	74
TABLA 23. CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS DE QUESOS OAXACA INDUSTRIALES.....	75
TABLA 24. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LISTA DE INGREDIENTES DECLARADOS EN LA ETIQUETA DE LOS QUESOS INDUSTRIALES.....	76
TABLA 25. POBLACIONES MICROBIANAS PRESENTES EN QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....	81
TABLA 26. POBLACIONES MICROBIANAS PRESENTES EN QUESO OAXACA ARTESANAL.....	83
TABLA 27. POBLACIONES MICROBIANAS PRESENTES EN QUESO OAXACA INDUSTRIAL.....	83
TABLA 28. ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA EL QUESO OAXACA DE ACUERDO A LA NOM-243-SSA1-2010.....	84
TABLA 29. PARÁMETROS DE TEXTURA EN LOS QUESOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS MEDIANTE TPA.....	85
TABLA 30. PARÁMETROS DE TEXTURA EN QUESOS ARTESANALES OBTENIDOS MEDIANTE TPA.....	87
TABLA 31. PARÁMETROS DE TEXTURA OBTENIDOS MEDIANTE TPA EN LOS QUESOS INDUSTRIALES.....	88
TABLA 32. PARÁMETROS DE COLOR EN LOS QUESOS EXPERIMENTALES Y CAMBIOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....	89
TABLA 33. PARÁMETROS DE COLOR EN LOS QUESOS ARTESANALES.....	91

TABLA 34. PARÁMETROS DE COLOR EN LOS QUESOS INDUSTRIALES	91
TABLA 35. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS VOC'S IDENTIFICADOS EN QUESO OAXACA	93
TABLA 36. ECUACIONES DE REGRESIÓN Y PARÁMETROS DE VALIDACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS DE AROMA ..	94
TABLA 37. EVOLUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE VOC'S EN QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES.....	96
TABLA 38. VALOR DE ACTIVIDAD AROMÁTICA (OAV) DE VOC'S IDENTIFICADOS EN QUESO OAXACA EXPERIMENTAL ELABORADO CON LECHE CRUDA	101
TABLA 39. VALOR DE ACTIVIDAD AROMÁTICA (OAV) DE VOC'S IDENTIFICADOS EN QUESO OAXACA EXPERIMENTAL ELABORADO CON CULTIVO MESOFÍLICO	102
TABLA 40. VALOR DE ACTIVIDAD AROMÁTICA (OAV) DE VOC'S IDENTIFICADOS EN QUESO OAXACA EXPERIMENTAL ELABORADO CON CULTIVO TERMOFÍLICO	103
TABLA 41. VOZ DEL PRODUCTO PARA EL PERFIL SENSORIAL DEL QUESO OAXACA.	105
TABLA 42. P-VALUES OBTENIDOS PARA LAS INTENSIDADES PERCIBIDAS EN LOS QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES	108
TABLA 43. ANÁLISIS LSD EN LA INTENSIDAD DE LOS ATRIBUTOS SENSORIALES RESPECTO AL TIEMPO EN LOS QUESOS EXPERIMENTALES.	109
TABLA 44. P-VALUES OBTENIDOS PARA LAS INTENSIDADES PERCIBIDAS EN LOS QUESOS ARTESANALES MEDIANTE ANOVA.	118
TABLA 45. ANÁLISIS LSD EN LA INTENSIDAD DE LOS ATRIBUTOS SENSORIALES ENTRE QUESOS ARTESANALES DE REYES ETLA, OAXACA.	119
TABLA 46. ANÁLISIS LSD EN LA INTENSIDAD DE LOS ATRIBUTOS SENSORIALES ENTRE LOS QUESOS ARTESANALES DE TULANCINGO.	122
TABLA 47. ANÁLISIS LSD EN LA INTENSIDAD DE LOS ATRIBUTOS SENSORIALES ENTRE QUESOS ARTESANALES DE ACULCO, ESTADO DE MÉXICO.....	124
TABLA 48. P-VALUES OBTENIDOS PARA LAS INTENSIDADES PERCIBIDAS EN LOS QUESOS INDUSTRIALES MEDIANTE ANOVA CON PSEUDOMIXED MODEL DE 3 FACTORES Y 2 VÍAS ($p \leq 0.05$).	127
TABLA 49. ANÁLISIS LSD EN LA INTENSIDAD DE LOS ATRIBUTOS SENSORIALES ENTRE QUESOS INDUSTRIALES.	128

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. DEGRADACIÓN HOMOLÁCTICA Y HETEROLÁCTICA DE LA LACTOSA EN LAS BACTERIAS LÁCTICAS.....	13
FIGURA 2. RUTAS GENERALES PARA EL METABOLISMO DEL LACTATO EN EL QUESO.....	25
FIGURA 3. RUTAS METABÓLICAS DEL LACTATO POR LACTOCOCOS.....	27
FIGURA 4. RUTAS METABÓLICAS DEL CITRATO EN LACTOCOCOS CITRATO POSITIVOS Y LEUCONOSTOC SP.	28
FIGURA 5. VÍAS GENERALES PARA EL CATABOLISMO DE LOS ÁCIDOS GRASOS LIBRES EN EL QUESO.....	29
FIGURA 6. (A) ACCIÓN DE LA PROTEINASA ASOCIADA DE LACTOCOCCUS SOBRE LA CASEÍNA; Y (B) DEGRADACIÓN DE UN HIPOTÉTICO TETRAPÉPTIDO POR LA ACCIÓN COMBINADA DE PROTEASAS Y PEPTIDASAS LACTOCÓCICAS.	34
FIGURA 7. VÍAS GENERALES PARA EL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDO LIBRES (FAA).....	36
FIGURA 8. PROCESO ESTANDARIZADO PARA LA ELABORACIÓN DE LOS QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES.....	49
FIGURA 9. GRÁFICO DEL ANÁLISIS SECUENCIAL PARA LA SELECCIÓN DE JUECES SENSORIALES	62
FIGURA 10. EJEMPLO DE EVALUACIÓN Y MANEJO DE ESCALA EN LA FASE DE RETROALIMENTACIÓN	69
FIGURA 11. EVOLUCIÓN DEL NS (PH 4.6) DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE QUESO OAXACA.	78
FIGURA 12. EVOLUCIÓN DEL NS (TCA) DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE QUESO OAXACA	78
FIGURA 13. SUPERFICIE DE RESPUESTA ESTIMADA PARA MAXIMIZAR EL ÁREA DE LOS PICOS CROMATOGRÁFICOS	92
FIGURA 14. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS EXPERIMENTALES EN EL DÍA 1.....	114
FIGURA 15. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS EXPERIMENTALES EN EL DÍA 8.....	115
FIGURA 16. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS EXPERIMENTALES EN EL DÍA 15.....	116
FIGURA 17. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS EXPERIMENTALES EN EL DÍA 22.....	117
FIGURA 18. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS ARTESANALES DE REYES ETLA, OAXACA.	120
FIGURA 19. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS ARTESANALES DE HIDALGO.....	123
FIGURA 20. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS ARTESANALES DE ACULCO.	125
FIGURA 21. PCA OBTENIDO PARA LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE LOS QUESOS INDUSTRIALES.....	129
FIGURA 22. MAPEO DE PREFERENCIA INTERNO DE LOS QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES, ARTESANALES E INDUSTRIALES.....	131
FIGURA 23. MAPEO EXTERNO DE PREFERENCIA CON LOS QUESOS OAXACA EXPERIMENTALES, ARTESANALES E INDUSTRIALES	133
FIGURA 24. MFA ENTRE ATRIBUTOS AROMÁTICOS Y VOC'S RESPONSABLES DE OLOR Y AROMA EN LOS QUESOS OAXACA	134
FIGURA 25. MFA ENTRE ATRIBUTOS VISUALES Y PARÁMETROS DE COLOR EN LOS QUESOS OAXACA.	135
FIGURA 26. MFA ENTRE ATRIBUTOS DE TEXTURA Y LOS PARÁMETROS DEL TPA EN LOS QUESOS OAXACA.....	136
FIGURA 27. MFA ENTRE ATRIBUTOS QUE INTEGRAN EL PERFIL SENSORIAL Y PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS	138

INTRODUCCIÓN

Las características de un queso (microbiológicas, fisicoquímicas, sensoriales, de textura y funcionales) son el resultado de múltiples factores entre los cuales destacan: la composición química de la leche, los tratamientos térmicos aplicados, la microbiota presente, así como las condiciones de procesamiento y almacenamiento. La modificación de cualquiera de estos factores resulta en la obtención de quesos con características heterogéneas que impactan en la calidad del producto final. Es por ello, que el estudio de estos factores permite lograr una adecuada comprensión sobre el origen y modificación de las características del queso durante el procesamiento y almacenamiento.

El queso Oaxaca es un queso fresco de pasta hilada, de origen mexicano. Se elabora en todo el país ya sea de forma industrial o artesanal. Se utiliza como ingrediente en diversos platillos mexicanos en los cuales se aprovechan sus propiedades de fundido. El queso Oaxaca artesanal se elabora con leche cruda, acidificada naturalmente por las bacterias lácticas presentes en la leche, mientras que el queso Oaxaca industrial se obtiene con leche pasteurizada, acidificada con bacterias lácticas comerciales. Debido a su importancia cultural y económica, el interés por estudiar las características fisicoquímicas, microbiológicas, funcionales y de estructura del queso Oaxaca ha ido en aumento (M. de Oca-Flores *et al.*, 2009; Caro *et al.*, 2011; Colín-Cruz *et al.*, 2012; Morales-Celaya *et al.*, 2012; Castro Castillo, 2013). Sin embargo, sus características sensoriales han sido poco estudiadas, a pesar de que éstas son esenciales en la caracterización y tipificación de un queso. Asimismo, los atributos sensoriales juegan un papel muy importante en la aceptación y preferencia de los consumidores, por lo que no debieran omitirse al establecer normas y especificaciones de calidad como se observa en la legislación mexicana (NMX-F-733-COFOCALEC-2012), en la que solamente se establecen las especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas.

En los países con larga tradición quesera, las especificaciones sensoriales están claramente definidas y establecidas, especialmente si un queso cuenta con denominación de origen. De ahí que la definición del perfil sensorial de un queso determinado es indispensable como parte de su caracterización. En este aspecto, el análisis sensorial descriptivo se aplica de forma sistemática. En México, los productores de queso Oaxaca anhelan contar con algún tipo de certificado de origen que proteja la autenticidad de este típico queso mexicano, lo que beneficiaría tanto a productores como a consumidores.

Por otro lado, se ha reportado que las características fisicoquímicas del queso Oaxaca son heterogéneas, ya sea queso artesanal (M. de Oca-Flores *et al.*, 2009) o industrial (Aceves Sánchez, 2013); además, se ha observado que los atributos sensoriales del queso Oaxaca cambian rápidamente a los largo de su vida útil (aproximadamente 22 días en refrigeración).

Todo esto, dificulta el desarrollo de un perfil sensorial que permita la tipificación del queso Oaxaca que se produce y comercializa en nuestro país.

La investigación llevada a cabo en este proyecto aporta el conocimiento particular sobre la relación que existe entre la composición química, las características fisicoquímicas y microbiológicas con los atributos sensoriales. Asimismo, la información obtenida permite tener una explicación de las preferencias del consumidor a partir de la comprensión del desarrollo y las variaciones en el sabor, aroma y textura del queso que se producen durante el proceso de elaboración y/o durante el tiempo de almacenamiento.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Queso Oaxaca

El queso Oaxaca, también conocido como quesillo o queso trenzado, está hecho con leche de vaca, es un queso fresco y tiene un sabor suave. Este queso es originario del municipio de ETLA, Estado de Oaxaca. El queso Oaxaca pertenece a un grupo de quesos llamados pasta hilada (del italiano que significa cuajada estirada). Este grupo de quesos se obtiene de leche cruda o pasteurizada, entera o parcialmente descremada o una mezcla de leche fresca entera con sólidos totales o derivados lácteos, cuajo u otros coagulantes a veces agregados. Después de que la cuajada se desuera, ésta se somete a un amasado en agua caliente y estiramiento mecánico, dando como resultado una masa hilada homogénea (Salas-Coronado *et al.*, 2019).

La norma correspondiente (NMX-F-733-COFOCALEC-2012) define al queso Oaxaca como: “producto elaborado a partir de la cuajada proveniente de leche fresca o en polvo, entera o parcialmente descremada, sometida a tratamiento térmico que asegure su inocuidad, a la cual se le puede adicionar cloruro de calcio, cuajo, cultivos lácteos y/o ácido. La cuajada obtenida es fundida con agua caliente o calor indirecto y en su proceso la proteína es texturizada en forma de hilo o hebra, y es colocada en agua o salmuera frías, para ser posteriormente enredados los hilos o hebras en diversas formas. Es un queso fresco, que se consume preferentemente en los primeros 20 días a partir de su fecha de elaboración y requiere refrigeración para su conservación; de pasta blanda y fundible, cuya característica principal del hilo o hebra es la formación de filamentos que se deshilan o deshebran. El producto no puede contener grasa y proteínas de origen diferente al de la leche, ni almidones, ni féculas”.

Las especificaciones fisicoquímicas de este queso están definidas en la norma mencionada anteriormente; las microbiológicas en la norma NOM-243-SSA1-2010, que es general para los quesos frescos. En un anteproyecto de norma (NOM F – – 1985) se sugirieron especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales. En este anteproyecto se propuso que el queso Oaxaca debía tener un color, olor y sabor “característicos”. El término “característico” resulta ambiguo si se considera que el queso Oaxaca es un producto lácteo específico y por ende debería tener claramente definidas sus propiedades sensoriales.

1.1.1. Estudios realizados en queso Oaxaca

Las características de un queso (microbiológicas, fisicoquímicas, sensoriales, de textura y funcionales) son el resultado de múltiples factores entre los cuales destacan: la composición química de la leche, los tratamientos térmicos aplicados, la microbiota presente, las condiciones de procesamiento y almacenamiento. La importancia cultural, gastronómica y económica del queso Oaxaca en México ha motivado la investigación de todas estas características, destacando los siguientes estudios:

Con respecto a las características microbiológicas del queso Oaxaca, se cuenta con información que permite tener un panorama general en este aspecto. Al ser un queso artesanal, se elabora principalmente con leche cruda, la cual contiene una micromicrobiota variada y numerosa de microorganismos saprófitos y patógenos (D'amico, 2014). La población microbiana de los quesos de pasta hilada, en general, y del queso Oaxaca, en particular, depende en gran medida de si se lleva a cabo la acidificación de la leche de forma natural o de si se usa leche pasteurizada y cultivos lácticos. En el primer caso, existirá en el queso una mezcla compleja de microorganismos, cuya composición dependerá de numerosos factores ambientales siendo, en general, las BAL la población dominante (Parente *et al.*, 1997; Coppola *et al.*, 2001). En el segundo caso, predominarán las bacterias utilizadas en los cultivos adicionados, que suelen ser una mezcla de BAL (Oberger *et al.*, 1991). El uso de estos cultivos puede conducir a una menor variabilidad en la micromicrobiota de los quesos resultantes.

Caro *et al.* (2013) identificaron y caracterizaron 27 cepas de *Lactobacillus* del queso Oaxaca. La identificación de las cepas se realizó a nivel de especie mediante secuenciación de rRNA. Los aislamientos fueron examinados por su capacidad de acidificación, resistencia a los antibióticos y actividad contra los patógenos. La especie predominante de *Lactobacillus* en el queso de Oaxaca fue *L. plantarum*.

Saxer, Schwenninger and Lacroix (2013) estudiaron la microbiota de muestras de queso Oaxaca producidas sin conservantes químicos y almacenadas a 10 °C durante 20 días. Los resultados mostraron la presencia de bacterias ácido lácticas en concentraciones superiores a 10^8 UFC/g de queso. En el estudio, también se detectaron microorganismos contaminantes típicos como Enterobacterias, levaduras y mohos.

González (2014) evaluó la presencia y evolución de la micromicrobiota no patógena durante el proceso y almacenamiento en refrigeración de queso Oaxaca elaborado con leche cruda. En la leche, reportó intervalos de 1×10^2 a 5×10^3 UFC/mL de mohos, de 1×10^2 a 1.3×10^4 UFC/mL de levaduras, de 3×10^5 a 2×10^8 UFC/mL y de 5×10^4 a 2×10^8 UFC/mL de bacterias mesófilas y psicrótrofas respectivamente. Los lactobacilos estuvieron presentes en intervalos de 1×10^7 a 9×10^8 UFC/mL, mientras que los estreptococos de 1×10^7 a 6.7×10^9 UFC/mL. Con excepción de los mohos y levaduras, la población de todos los microorganismos evaluados aumentó durante el proceso; y durante el almacenamiento (22 días, 4 °C) todas las poblaciones aumentaron, con excepción de las bacterias lácticas que disminuyeron. En un queso control negativo (elaborado con leche pasteurizada) hubo un crecimiento mínimo de mohos y levaduras, y las bacterias mesófilas y psicrótrofas estuvieron presentes en intervalos de 1.5×10^2 a 5×10^2 UFC/g, mientras que la población de bacterias lácticas fue menor a 10^7 UFC/g.

Alva (2014) evaluó el desarrollo de bacterias coliformes totales y fecales durante el proceso y almacenamiento de queso Oaxaca artesanal. Reportó en la leche poblaciones de 10^3 a 10^7 UFC/mL de coliformes totales y de 10^5 NMP/mL de coliformes fecales. El nitrato (adicionado

por los productores como supuesto agente antimicrobiano) hizo descender la población de coliformes en un ciclo logarítmico, mientras que el amasado provocó la disminución de la población coliforme de 1 a 3 ciclos logarítmicos. Durante el almacenamiento, la población coliforme descendió de 1 a 2 ciclos logarítmicos, y al final del almacenamiento (22 días, 4 °C) las poblaciones eran del orden de 10^3 a 10^6 UFC/g de coliformes totales y de 10^5 NMP/g de coliformes fecales.

Galván (2010) obtuvo queso Oaxaca a 34 y 37 °C y evaluó sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales. Encontró que el incremento de la temperatura no afecta de manera significativa el tiempo empleado para alcanzar el pH de amasado (5.2-5.3), pero el queso obtenido a 37 °C presentó mayor sinéresis, lo cual tuvo como consecuencia un contenido de humedad menor en 3% (con respecto al obtenido a 34 °C). Además, reportó que el queso obtenido a 37 °C tuvo una mejor aceptación en una prueba sensorial realizada con consumidores, presentó menor crecimiento microbiano (bacterias psicrótrofas, mohos y levaduras) durante el almacenamiento, y una vida de anaquel mayor.

Ferrer (2014) estudió las características fisicoquímicas, sensoriales y la proteólisis durante el almacenamiento en queso Oaxaca elaborado con un cultivo de bacterias ácido lácticas (BAL) termofílicas (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) y BAL mesofílicas (mezcla de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*), bajo las mismas condiciones de procesamiento (contenido de grasa, población de BAL, temperatura de procesamiento de 37°C). Encontró que el contenido de humedad, proteína y grasa en el queso elaborado con BAL mesofílicas fue de 50.7%, 23.1% y 23.0%, respectivamente; mientras que en el queso elaborado con BAL termofílicas fue de 52.1%, 22.7% y 21.5%, respectivamente. El tiempo promedio de acidificación fue menor (256 min) para el queso elaborado con BAL termofílicas, mientras que el queso elaborado con BAL mesofílicas requirió de 312 minutos. Por efecto de la temperatura de amasado que alcanza la pasta (57°C) la población de BAL mesofílicas descendió dos ciclos logarítmicos, mientras que las BAL termofílicas fueron poco afectadas por el calor. La proteólisis durante el almacenamiento fue mayor en queso elaborado con cultivo termofílico ya que tanto la población de bacterias lácticas como el contenido de humedad eran mayores en este queso. Desde el primer día y durante el almacenamiento, los atributos sensoriales (sabor, textura, color, olor y apariencia), fueron mejor aceptados en el queso elaborado con el cultivo mesofílico. Concluyó que, a las mismas condiciones de procesamiento, el empleo de un cultivo láctico termofílico permite reducir el tiempo de procesamiento de 72 minutos (promedio); no obstante, el queso obtenido con cultivo mesofílico presenta mejores características fisicoquímicas y sensoriales, y mayor vida de anaquel.

En el queso Oaxaca existe proteólisis, ya que a pesar de que no hay una etapa de maduración en sentido estricto, es inevitable que haya degradación de la proteína durante el almacenamiento en refrigeración. Colín-Cruz *et al.* (2012) evaluaron la proteólisis en queso Oaxaca con diferente contenido de grasa (15%, 22% y 25%) durante el almacenamiento (22

días) en refrigeración (4°C). Reportaron que a medida que aumentaba la proporción de grasa se incrementaba la proteólisis primaria (medida como nitrógeno soluble, NS, en una disolución amortiguadora de pH 4.6; NS pH 4.6) y la proteólisis secundaria (medida como nitrógeno soluble, NS, en una disolución de ácido tricloroacético al 12%; NS TCA 12%). Atribuyeron este comportamiento a que la humedad en los sólidos no grasos (HSGN) aumenta de forma proporcional al incremento de grasa de tal manera que hay mayor cantidad de agua disponible para las reacciones bioquímicas. Los diagramas de electroforesis (SDS-PAGE) corroboraron la degradación progresiva de las caseínas a lo largo del almacenamiento.

En queso Oaxaca obtenido con 22% de grasa a 34 y 37 °C durante el proceso (Garcés, 2010) reportó que al final del almacenamiento (22 días) la proteólisis medida como NS pH 4.6 fue mayor en el queso obtenido a 34 °C (12.4%) que en el obtenido a 37 °C (9.6%). Alvarado (2011) reportó una degradación de proteína de 12% (medida como NS pH 4.6) en queso Oaxaca obtenido en un queso control (a 34 °C), y una proteólisis menor (9.0%) en quesos Oaxaca obtenidos por acidificación directa. En queso Oaxaca obtenido con cultivo mesofílico (*Lc. lactis* ssp. *lactis* y *Lc. Lactis* ssp. *cremoris*) y termofílico (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) Ferrer (2014) reportó que la proteólisis primaria (como NS pH 4.6) y secundaria (como NS TCA 12%) al final del almacenamiento (22 días) fue mayor en el queso obtenido con cultivo termofílico (18.46% y 7.40 % respectivamente), que en el queso obtenido con cultivo mesofílico (14.6 % y 5.17% respectivamente). Atribuyó estos resultados al mayor contenido de humedad y al mayor número de BAL sobrevivientes al amasado en el queso obtenido con cultivo termofílico.

En los últimos años se están realizando, de forma creciente, trabajos de investigación relativos al queso Oaxaca, aunque todavía quedan aspectos por estudiar. En las investigaciones publicadas hasta el momento se muestran y discuten datos relativos a las propiedades físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales del queso Oaxaca (Montes de Oca-Flores *et al.*, 2009; Villanueva-Carvajal *et al.*, 2012; Caro *et al.*, 2013; Saxer *et al.*, 2013), aspectos tecnológicos relacionados con la elaboración del queso como el efecto de la composición de la leche, de la pasteurización o de las condiciones de acidificación sobre características de calidad, microestructura y/o rendimiento del queso (Aguilar-Uscanga *et al.*, 2006; Caro *et al.*, 2011; Morales-Celaya *et al.*, 2012), o aspectos socio-culturales y económicos (Domínguez-López *et al.*, 2011). Sin embargo, a la vista de estas publicaciones no se han estudiado aún los cambios que experimentan las propiedades sensoriales de este queso durante su almacenamiento.

1.2. Microbiología del queso

La fabricación de la mayoría de las variedades de queso implica combinar cuatro ingredientes: leche, cuajo, microorganismos y sal, que se procesan a través de una serie de pasos comunes, como la formación de gel, la expulsión de suero y la adición de sal, seguido de un período de

almacenamiento y maduración. Las variaciones en las mezclas de ingredientes y el procesamiento posterior han llevado a la existencia de las más de 1000 variedades de queso conocidas (Sandine and Elliker, 1970). Si bien las variaciones en los parámetros de procesamiento, como la temperatura de cocción y las técnicas de manejo de la cuajada, juegan un papel importante en la determinación de las características de cada tipo de queso, la microbiota del queso juega un papel fundamental en el desarrollo de las características únicas de cada variedad de queso.

Los microorganismos involucrados en el proceso mediante el cual la leche se transforma en queso se pueden dividir en dos grupos principales: Bacterias ácido lácticas (BAL) y microbiota secundaria. Las BAL (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus delbrueckii*), utilizadas individualmente o en varias combinaciones según la variedad de queso, son responsables del desarrollo del ácido durante la producción de queso (Beresford *et al.*, 2001). Estas pueden ser mezclas de cepas definidas, como en el caso de muchos quesos fabricados por métodos tradicionales; mezclas indefinidas de cepas, que se agregan al comienzo de la fabricación; o cepas que están presentes de forma natural en la leche con la que se elabora el queso. Durante el almacenamiento y la maduración del queso, las BAL, junto con la microbiota secundaria, promueven una serie compleja de reacciones bioquímicas que son vitales para el desarrollo adecuado del sabor y la textura (Fox *et al.*, 2016).

La microbiota secundaria está compuesta de mezclas complejas de bacterias, levaduras y mohos, y generalmente se asocia con variedades particulares de queso. En muchas variedades de queso, la acción de la microbiota secundaria contribuye significativamente a las características específicas de esa variedad. La microbiota secundaria se puede agregar en forma de cultivos definidos, pero en muchas situaciones se compone de microorganismos fortuitos que tienen acceso al queso a partir de ingredientes o del medio ambiente. Durante la fabricación y maduración del queso, se producen interacciones complejas entre los componentes individuales de la microbiota del queso.

1.2.1. Factores que influyen en el crecimiento de microorganismos en el queso

Varios parámetros físicos controlan el crecimiento de microorganismos en el queso durante la maduración, incluido el contenido de agua, la concentración de sal y el pH. El grado de variación en estos parámetros está influenciado por el proceso de elaboración del queso.

1.2.1.1. Humedad

Todos los microorganismos requieren agua para crecer y una de las formas más efectivas de controlar su crecimiento es reducir el agua disponible mediante la deshidratación o la adición de algún componente soluble en agua como el azúcar o la sal. Un aumento en el contenido de humedad del queso conduce a una mayor susceptibilidad al deterioro. El concepto de actividad del agua (A_w), desarrollado por (Scott, 1957), ha proporcionado una base para una

comprensión cada vez mayor de las relaciones microorganismos-agua en los alimentos. La actividad del agua es directamente proporcional al contenido de humedad del queso e inversamente proporcional a la concentración de NaCl y otros compuestos de bajo peso molecular (Esteban and Marcos, 1989).

Durante las primeras etapas de la fabricación del queso, el A_w es cercano a 0.99, lo que favorece el crecimiento y la actividad de las BAL. Sin embargo, después del desuerado, el salado y la maduración, los niveles de A_w oscilan entre 0.917 - 0.988 (Rüegg and Blanc, 1981), que son significativamente más bajos que los requisitos óptimos de las BAL. Por lo tanto, el A_w contribuye al control de su actividad metabólica y a su multiplicación (Brown, 1976).

Las BAL generalmente tienen un A_w mínimo más alto que otras bacterias del queso; el A_w mínima para *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* y *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* son 0.93, 0.98, 0.96 y 0.96, respectivamente (Weber and Ramet, 1987).

Durante la maduración del queso se da una depresión en el A_w debido a la pérdida de agua por evaporación, el contenido de sal, la hidrólisis de proteínas a péptidos y aminoácidos, así como de triglicéridos a glicerol y ácidos grasos. La hidrólisis de cada péptido o enlace de éster requiere una molécula de agua. Como se produce una proteólisis significativa en el queso, el nivel de humedad libre disminuirá durante la maduración (Cogan, 2000). El control de la pérdida de humedad se puede efectuar aumentando la humedad relativa en la sala de maduración o empacando el queso en cera o plástico. Puede haber variación en los valores de A_w en diferentes zonas en el queso; para los quesos duros y semiduros salados en salmuera, los valores suelen ser más altos hacia el centro.

1.2.1.2. Contenido de sal

La sal y el A_w están muy interrelacionados, el principal efecto del aumento en la concentración de sal en un queso es la reducción de su A_w . Dicha reducción puede favorecer la inhibición tanto de las BAL como las bacterias de descomposición. La concentración requerida para dicha inhibición dependerá de su pH y contenido de humedad; pero, en general, 10 - 100 g / kg es suficiente (Rüegg and Blanc, 1981). La relación entre la concentración de sal y A_w fue descrita por Cogan, (2000) como sigue:

$$A_w = -0.0007x + 1.0042$$

Donde, x son gramos de sal por kilogramo de queso.

El coeficiente de correlación (r^2) obtenido para esta ecuación fue de 0,997. La concentración de sal en el queso varía de 0.7 a 7 g / 100 g, correspondiente a valores de A_w de 0.99–0.95, respectivamente. Muchos microorganismos podrían crecer en tales condiciones, por lo que se requiere de la contribución de otros factores para explicar la inhibición del crecimiento microbiano (Beresford *et al.*, 2001). Cabe destacar que lo que determina el efecto inhibitorio de

la sal en el queso, ya sea añadida en seco o en salmuera, es la concentración de sal disuelta en y no la concentración real de sal añadida.

1.2.1.3. pH y ácidos orgánicos

De manera general, el pH óptimo para el crecimiento de las bacterias es cercano a la neutralidad y el crecimiento a menudo es pobre a valores de pH de 5.0 o menores. Debido a la acumulación de ácidos orgánicos en la cuajada del queso durante la fabricación suelen obtenerse valores de pH que oscilan entre 4.5 y 5.3. Los bajos valores de pH dificultan la supervivencia de especies bacterianas sensibles al ácido. Se cree que el inhibidor real es la forma no disociada del ácido orgánico (Beuchat and Golden, 1989). Los principales ácidos orgánicos que se encuentran en el queso son: ácido láctico, acético y propiónico que tienen pKas de 3.08, 4.75 y 4.87, respectivamente, de modo que el ácido láctico es el menor y el ácido propiónico el inhibidor más efectivo a la misma concentración al pH del queso. Sin embargo, el lactato en la cuajada de queso está invariablemente presente en concentraciones mucho mayores que cualquiera de los otros dos ácidos, excepto en el caso del queso suizo donde la concentración de ácido propiónico puede ser mayor que el ácido láctico en el queso maduro (Frohlich-Wyder and Bachmann, 2004).

1.2.1.4. Temperatura de maduración

Los microorganismos implicados en la fabricación y maduración del queso tienen una temperatura mesofílica o termofílica de crecimiento, es decir, que se desarrollan a una temperatura óptima aproximada de 30 °C o 42 °C, respectivamente.

La temperatura a la que se madura el queso es un compromiso entre la necesidad de promover las reacciones de maduración y controlar el crecimiento de la microbiota secundaria deseable, y la necesidad de prevenir la propagación de posibles enfermedades y bacterias patógenas. Las temperaturas más altas promueven la maduración acelerada (Folkertsma, Fox and McSweeney, 1996), pero los cambios en el cuerpo y el sabor son a menudo perjudiciales.

1.2.1.5. Potencial redox

El potencial redox u oxidación-reducción (E_h) es una medida de la capacidad de un sistema químico / bioquímico para oxidarse (perder electrones) o reducirse (ganar electrones). El estado oxidado o reducido se indica mediante un valor mV positivo o negativo, respectivamente. El E_h de la leche es de aproximadamente + 150 mV, mientras que el del queso es de aproximadamente - 250 mV. Si bien el mecanismo exacto de la reducción de E_h en el queso no está completamente establecido, lo más probable es que esté relacionado con la fermentación del ácido láctico por parte de las BAL con aumento y/o reducción de pequeñas cantidades de O_2 en el agua de la leche (Crow *et al.*, 1995). Como consecuencia de estas reacciones, el interior del queso es esencialmente un sistema anaeróbico, que solo puede soportar el crecimiento de microorganismos anaerobios facultativos. En diferentes cultivos microbianos, el E_h puede variar de aproximadamente + 300 mV para aerobios a menos de -

400 mV para anaerobios (Brown and Emberger, 1980). La E_h es uno de los principales factores para determinar los tipos de microorganismos que crecerán en el queso; por lo tanto, los aerobios facultativos, como *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* y *Micrococcus* ssp. no tendrán crecimiento en el interior del queso, mientras que las bacterias que se desarrollan en la superficie del queso son predominantemente aerobios facultativos.

1.2.1.6. Nitrato

El nitrato (NO_3^-) se agrega a la leche (como KNO_3 o NaNO_3) en la producción de algunos quesos, especialmente variedades de tipo holandés, como Edam y Gouda para prevenir el crecimiento de *Clostridium tyrobutyricum* que fermenta el lactato a butirato, H_2 y CO_2 . El H_2 y el CO_2 son responsables de los grandes agujeros presentes en el queso, mientras que el butirato es responsable de la formación de mal sabor. En estos quesos, la tasa de migración de NaCl es relativamente lenta y la igualación de la concentración de sal en todo el queso puede llevar varias semanas. Por lo tanto, la inhibición del crecimiento de microorganismos de descomposición como *C. tyrobutyricum* es necesaria antes de lograr el equilibrio de sal y el nitrato cumple esta función.

Durante la maduración, el nitrato se reduce a nitrito (inhibidor real del crecimiento) por la xantina oxidasa autóctona presente en la leche y/o cuajada (Gray, Irvine and Kakuda, 1979). El nitrito no afecta el crecimiento de las BAL, pero inhibe las propionibacterias esenciales para la formación de los ojos en el queso (i.e. Emmental) y, por lo tanto, no es adecuado para el control de *C. tyrobutyricum* en un queso donde se requiere el crecimiento de propionibacterias. El nitrito puede reaccionar con aminoácidos aromáticos en el queso para producir nitrosaminas, muchas de las cuales son cancerígenas. La reacción depende del pH, y ocurre preferiblemente en el intervalo de pH de 2 a 4.5. El queso tiene un pH más alto y esto ralentiza la reacción que conduce a la formación de nitrosaminas.

1.3. Bacterias ácido lácticas (BAL)

La función principal de las BAL es producir ácido durante el proceso de fermentación; sin embargo, también contribuyen a la maduración del queso cuando sus enzimas están involucradas en la proteólisis y la conversión de aminoácidos en compuestos aromáticos (Fox and Wallace, 1997). Las BAL podrían definirse como aislados que producen suficiente ácido para reducir el pH de la leche a <5.3 en 6 horas a $30-37^\circ\text{C}$. Las BAL se agregan a leche deliberadamente al comienzo de la fabricación del queso o pueden ser contaminantes naturales de la leche, como es el caso en muchas variedades de queso artesanales hechos a base de leche cruda (Beresford *et al.*, 2001). Crecen rápidamente y típicamente alcanzan densidades de 10^8 UFC / g dentro de las primeras horas del proceso de fabricación.

Se utilizan BAL mesófilicas o termófilas, dependiendo del queso que se fabrique. Los cultivos mesofílicos se usan en la producción de Cheddar, Gouda, Edam, Blue y Camembert, mientras

que los cultivos termofílicos se usan para quesos duros cocidos a alta temperatura (50–55 °C) como Emmental, Gruyere, Parmesano y Grana. Pertenecen a las BAL los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Enterococcus*.

Los cultivos termofílicos están compuestos de cepas simples o múltiples de *S. thermophilus* y lactobacilos termófilos, como *Lb. delbrueckii ssp. delbrueckii*, *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii ssp. lactis* o *Lb. helveticus*. Los cultivos termofílicos naturales (no adicionados) se utilizan en la producción a pequeña escala de quesos Gruyere, Emmental y Grana de Francia, Suiza e Italia. Estos cultivos generalmente se producen incubando suero de la producción del día anterior, durante la noche a 40-45 °C. La microbiota está compuesta principalmente por *S. thermophilus*, aunque también pueden estar presentes enterococos, lactococos y leuconostocs, y varias especies de lactobacilos, incluidos *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* y *Lb. fermentum*. Variedades como Pecorino sardo (de Cerdeña) y Majorero (de España) se fabrican sin la adición deliberada de BAL y se aprovechan en las BAL que están presentes de forma natural en la leche.

Las principales BAL y algunas de las características bioquímicas que se pueden utilizar para diferenciarlas, se muestran en la Tabla 1. La morfología celular, el isómero y la cantidad de ácido láctico producido, las capacidades de metabolismo del citrato (solo cultivos mesofílicos), la capacidad de crecer a 10 y 45 °C, la utilización de glucosa, galactosa y lactosa pueden distinguir fácilmente entre las especies enumeradas.

Tabla 1. Taxonomía y características distintivas de BAL usadas en la elaboración de queso (Parente and Cogan, 2004)

Microorganismo	Forma	A	B	C	D*	E*	Crecimiento ¹			Fermentación ²		
							10	40	45	Glu	Gal	Lac
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Coco	-	0.6	L	-	-	-	+	+	+	-	+
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Bacilo	-	2.0	DL	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	Bacilo	-	1.8	D	-	-	-	+	+	+	-	+
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. lactis</i>	Bacilo	-	1.8	D	-	-/+	-	+	+	+	+/-	+
<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	Coco	+	0.8	L	-	-	+	-	-	+	+	+
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	Coco	+	0.8	L	+/-	+	+	+	-	+	+	+
<i>Leuconostoc lactis</i>	Coco	-	<0.5	D	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>	Coco	-	0.2	D	+	-	+	-	-	+	+	+

A. reducción de tornasol en la leche antes de la coagulación.

B. % de ácido láctico producido en la leche (valores aproximados, las cepas individuales varían).

C. Isómero de lactato producido.

D. Metabolismo de citrato.

E. NH₃ de arginina.

* +/- Mayormente en cepas positivas; -/+ mayormente en cepas negativas.

¹ Temperatura (°C) de crecimiento.

² Glu, glucosa; Gal, galactosa; Lac, lactosa.

Una de las funciones principales de las BAL es proporcionar un entorno adecuado, con respecto al potencial redox, el pH y el contenido de humedad en el queso, que permita una favorable actividad enzimática del cuajo y favorecer el crecimiento de las BAL sobre el crecimiento de la

microbiota secundaria. La temperatura durante la fabricación y contenido de sal disuelta deben controlarse para garantizar que la actividad de las BAL sea suficiente para permitir alcanzar el pH requerido en el menor tiempo posible.

Otro aspecto importante a considerar de las BAL en un proceso de elaboración de queso es el tamaño de su población y su prevalencia. Si una BAL alcanza una población demasiado alta o sobrevive demasiado tiempo, se producen defectos de sabor como el amargor, que enmascaran o restan sabor al queso. En un estudio, Wilkinson *et al.* (1994) se monitoreo la viabilidad de las BAL y la liberación de sus enzimas intracelulares en el queso, concluyeron que las cepas de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* tenían diferentes patrones autolíticos. Los niveles más altos de aminoácidos libres fueron producidos por la cepa más autolítica (AM2) en relación con la cepa menos autolítica (HP). Crow *et al.* (1995) informaron que las células iniciadoras intactas fermentaron la lactosa, eliminaron el oxígeno y probablemente iniciaron una serie de reacciones de sabor, mientras que los procesos proteolíticos fueron acelerados por las células autolisadas. En cuajada fresca, la proporción de células intactas y lisadas se consideró importante en el control de la maduración del queso Cheddar (Crow *et al.*, 1995). Los productos finales de la proteólisis, los aminoácidos, se acumulan más rápidamente después de la autólisis inicial y son los principales precursores de los compuestos necesarios para la producción de sabor a queso (Sandine and Elliker, 1970; Urbach, 1995). Estas reacciones proporcionan no solo importantes compuestos aromatizantes, sino también precursores para otras reacciones generadoras de sabor en el queso.

La aplicación de cepas de *S. thermophilus* y/o *Lb. helveticus* como complementos iniciales en la fabricación de queso Cheddar es ahora bastante común. (Kiernan *et al.*, 2000) demostraron que *Lb. helveticus* se autolisó muy rápidamente en queso Cheddar y dio como resultado niveles significativamente más altos de aminoácidos libres y mejoró el sabor del queso.

Una clasificación importante de las BAL se basa en el modo como fermentan la glucosa bajo condiciones estándar, es decir, cuando hay concentraciones no limitantes tanto de glucosa como de factores de crecimiento (aminoácidos, vitaminas y precursores de ácidos nucleicos) y una limitada disponibilidad de oxígeno. De esta forma, las BAL se dividen en dos grupos: homofermentativas, que fermentan la glucosa casi cuantitativamente a ácido láctico y heterofermentativas, que fermentan la glucosa a ácido láctico, etanol, ácido acético y CO₂ (Salminen, von Wright and Ouwehand, 2004). *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* y el subgrupo III de *Lactobacillus* son heterofermentativos, mientras que todos los demás géneros de BAL son homofermentativos.

Las BAL homofermentativas utilizan la glucólisis (vía Embden-Meyerhof-Parnas), que se caracteriza por la formación de fructosa-1,6-difosfato (FDP), la cual es hidrolizada por la FDP aldolasa en dihidroxiacetona fosfato (DPHA) y gliceraldehído-3-fosfato (GAP). El GAP es convertido a piruvato y éste es reducido a ácido láctico por el NAD⁺ dependiente de una

lactatodeshidrogenasa (nLDH). De este modo se tiene que el principal producto final es el ácido láctico.

La vía heterofermentativa, también conocida como vía de las pentosas fosfato o vía 6-fosfogluconato/fosfocetolasa (6-PG/PK), se caracteriza por etapas de deshidrogenación inicial con la formación de 6-fosfogluconato seguida de una descarboxilación, la pentosa-5-fosfato obtenida es hidrolizada por la fosfocetolasa en GAP y acetilfosfato. El GAP generado es metabolizado del mismo modo que en la vía de la glucólisis, dando como resultado la formación de ácido láctico. Cuando no hay un aceptor de electrones adicional disponible, el acetilfosfato es reducido a etanol vía acetil coenzima A y acetaldehído. Así, este metabolismo conduce a la formación de cantidades significativas de otros productos finales (etanol, ácido acético, CO₂) distintos al ácido láctico. En la figura 1 se ilustra la fermentación láctica homofermentativa y heterofermentativa.

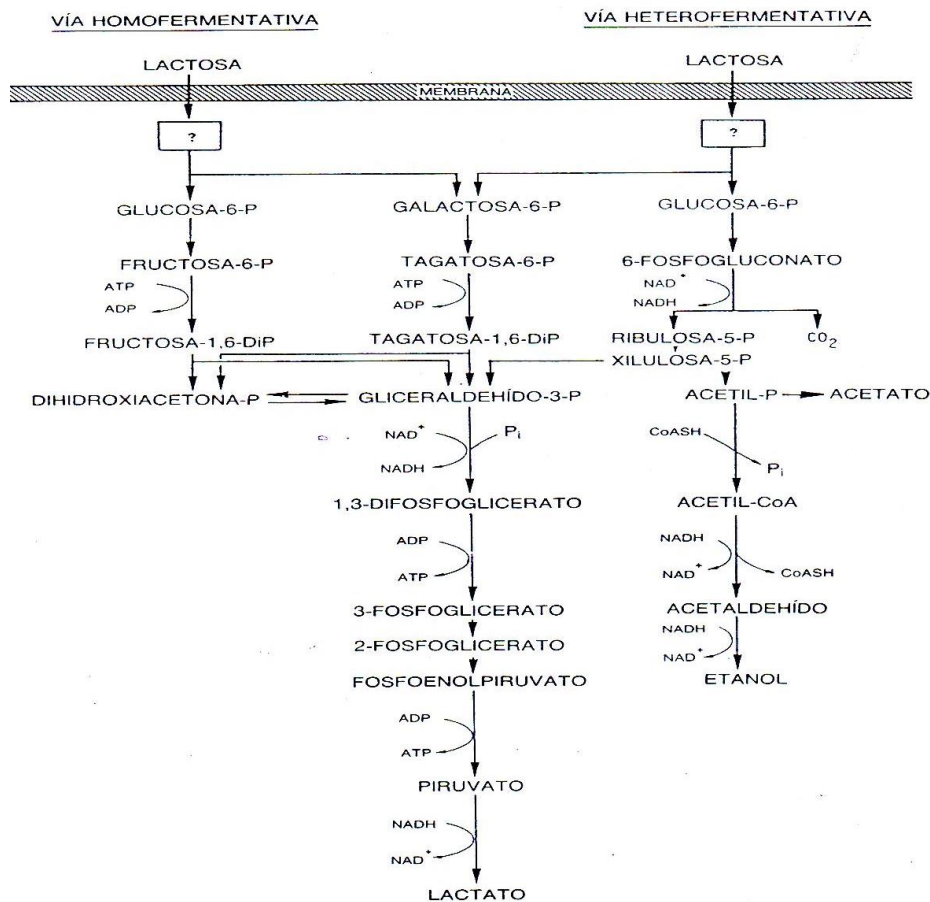


Figura 1. Degradación homoláctica y heteroláctica de la lactosa en las bacterias lácticas (Eck, 1990).

En teoría, de la fermentación homoláctica (vía glucólisis) se obtienen 2 mol de ácido láctico y una ganancia neta de 2 ATP por mol de glucosa consumida, mientras que en la fermentación

heteroláctica (vía 6-PG/PK) se obtiene un mol de ácido láctico, etanol y CO₂, respectivamente, y 1 mol de ATP por cada mol de glucosa (Salminen, von Wright and Ouwehand, 2004).

1.3.1. *Lactococcus lactis*

Lactococcus lactis es un miembro del grupo mesofílico de bacterias que forman uno de los principales componentes en cultivos bacterianos industriales y artesanales. El papel principal de los lactococos en las fermentaciones lácticas implica el metabolismo de la lactosa en ácido láctico y la conversión de proteínas de la leche en compuestos aromatizantes. En términos de morfología celular, los lactococos tienen células esféricas u ovoides y se presentan individualmente o en cadenas. Son Gram-positivos, catalasa-negativos, anaeróbios facultativos, no móviles y no forman esporas. Se consideran homofermentativos y fermentan la glucosa por la vía de la hexosa difosfato produciendo ácido L (+)-láctico (Mills, Ross and Coffey, 2011).

Lactococcus lactis puede crecer entre 12 y 40 °C, aunque su temperatura óptima de crecimiento es cercana a 30 °C. Algunas cepas tienen la capacidad de crecer por debajo de 10 °C y, de acuerdo al medio de cultivo utilizado, pueden sobrevivir a tratamientos subletales (50 °C y más). Por ejemplo, el comportamiento de 18 cepas de *Lc. lactis* se estudiaron bajo un gradiente térmico (máximo: 54 °C durante unos minutos), imitando un gradiente de fabricación de queso. Se observó una gran diversidad de comportamientos de deformación para la resistencia al calor, la pérdida de capacidad de cultivo y el nuevo crecimiento después del calentamiento (Demarigny, 2014). Estas bacterias no toleran altas concentraciones de sal, generalmente no pueden crecer por encima del 6.5%.

Tabla 2. Principales rasgos que caracterizan a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lc. lactis* ssp. *cremoris*

	<i>Lc. Lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	<i>Lc. Lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
Movilidad	-	-
Tolerancia de NaCl 4%	+	-
Crecimiento a 10°C	+	+
Crecimiento a 40°C	+	-
Isomero de ácido láctico	L (+)	L (+)
Esculina	+	Variable
Arginina dihidrolasa	+	-
Gentobiosa	+	-
Maltosa	+	-
Ribosa	+	-
Salicina	+	-
Trehalosa	+	-

Los cultivos de *Lc. lactis* que se encuentran en las fermentaciones lácteas se clasifican como subespecies *cremoris*, *lactis* y *lactis* biovar *diacetylactis*. La diferenciación de *cremoris* y *lactis*

generalmente se basa en algunos rasgos fenotípicos: *Lc. lactis* ssp. *lactis* produce amoníaco a partir de la arginina y es tolerante a 40 °C y NaCl al 4%, mientras que *Lc. lactis* ssp. *cremoris* no puede producir amoníaco a partir de la arginina y tiene una baja tolerancia a temperaturas elevadas y concentraciones de sal. La actividad de glutamato descarboxilasa (GAD), que se ha observado en *Lc. lactis* ssp. *lactis* pero no en ssp. *cremoris*, también puede servir como mecanismo de diferenciación. Las cepas de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar diacetylactis se caracterizan por su capacidad de utilizar citrato. La Tabla 2 resume algunos de los rasgos específicos que caracterizan a *Lc. lactis* ssp. *lactis* y *Lc. lactis* ssp. *cremoris*.

Lactococcus lactis se origina principalmente en vegetales frescos, frutas e incluso raíces o cereales, pero también puede provenir de la piel del animal. Como tal, se puede encontrar con frecuencia como microbiota natural en muchos productos alimenticios fermentados (Salama *et al.*, 1995).

En el ambiente lácteo, *Lc. lactis* ssp. *lactis* y *Lc. lactis* ssp. *cremoris* resultan esencialmente de una contaminación durante el ordeño. Se ha postulado que las máquinas de ordeño y las pipas de leche podrían considerarse como una de las principales fuentes de lactococos silvestres. Es de destacar que la composición de la población de *Lc. lactis* presente en la leche cruda puede variar cualitativa y cuantitativamente según la ubicación (granja, región) y la estación. Las consideraciones ecológicas son complejas porque *Lc. lactis* ssp. *lactis* y *Lc. lactis* ssp. *cremoris* puede intercambiar materiales genéticos (Salama *et al.*, 1995).

Lactococcus lactis no es β -hemolítico y puede considerarse un microorganismo inofensivo (generalmente reconocido como seguro, GRAS). Sin embargo, se han informado pocos casos de infecciones humanas (sangre y vías urinarias, ojos, infecciones sistémicas, endocarditis) (Demarigny, 2014). Estas patologías con frecuencia se observaron en pacientes debilitados. Probablemente resultaron de una translocación bacteriana del sistema digestivo dentro de los enterocitos. No se han reportado muertes, y un tratamiento con antibióticos ha sido suficiente para erradicar la bacteria *Lc. lactis* es sensible a muchos antibióticos, como amikacina, ampicilina, cefalosporina, cloranfenicol, eritromicina, penicilina, etc. Sin embargo, estas sensibilidades no son absolutas, y cada vez más se notan resistencias (Mills *et al.*, 2006).

La fermentación de la lactosa por *Lc. Lactis* se ha estudiado particularmente desde un entorno lácteo. La lactosa ingresa a la célula de dos maneras: el sistema de permeasa y/o el sistema dependiente de fosfotransferasa fosfoenolpiruvato (PTS). El primer sistema combina el adenosín trifosfato (ATP) hidrolizado, una creación de potencial de protones a través de la membrana citoplasmática y el transporte del disacárido dentro de la célula. El azúcar se fosforila después. El segundo sistema es un sistema de translocación, que consta de varias proteínas. La transferencia de lactosa se combina con su fosforilación. Los genes del sistema PTS están codificados en un plásmido. Desde el punto de vista energético, este segundo sistema es más interesante para la bacteria ya que la molécula se fosforila durante su

translocación y no después. Dentro de la célula, el destino de los azúcares depende del tipo de carbohidrato y del sistema de transporte utilizado. La glucosa integra la vía Embden-Meyerhoff-Parnass, mientras que la galactosa puede seguir la vía de la tagatosa (sistema PTS) o la vía de Leloir (sistema permeasa). La hidrólisis de la lactosa se lleva a cabo por una β -galactosidasa también codificada en un plásmido. La pérdida de este plásmido no conduce a la imposibilidad de uso de lactosa por la célula. Se observó que en suero natural muchas cepas de *Lactococcus* no tenían actividad β -galactosidasa; esto se equilibró con la presencia de otra enzima codificada en el cromosoma, la 6-fosfo- β -galactosidasa. El producto final que se excreta fuera de la célula es el ácido L-láctico. El uso de lactosa es una ventaja metabólica para *Lc. lactis*, que le da selectividad en el ambiente de la leche.

La concentración de citrato en la leche es cercana a 8 a 9 mM. El citrato es una fuente de carbono utilizable por las bacterias durante la maduración de los quesos. La fermentación de citrato conduce a la producción de diacetilo (2,3 butanodiona), el aroma típico de leches fermentadas, quesos, yogures, cremas y mantequillas. El citrato es absorbido en la célula bacteriana por medio de una permeasa de citrato plasmídico y se hidroliza en acetato y oxaloacetato por una citratoliasa. Esta última enzima está codificada dentro del cromosoma. El oxaloacetato se descarboxila en piruvato. Siguiendo el entorno fisicoquímico (presencia de oxígeno, pH, etc.), el piruvato finalmente se transforma en acetoína (95%) y diacetilo (5%). El diacetilo da dos ventajas selectivas para la célula. Primero, este compuesto puede inhibir muchas bacterias, y entre ellas muchos patógenos, incluso si en los productos lácteos la tasa de diacetilo nunca excede las 5 ppm. En segundo lugar, a pH bajo, se observa un co-metabolismo de citrato-lactosa o citrato-glucosa. Esto induce un flujo de salida de protones que permite el mantenimiento de la homeóstasis del pH y la reducción de la toxicidad del ácido orgánico.

Las necesidades de nitrógeno son variables entre las cepas de *Lc. lactis*. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* es un auxótrofo para al menos seis aminoácidos (arginina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, valina), pero se pueden observar diferencias de una cepa a otra. La subespecie *cremoris* es más exigente, incluyendo al menos ocho aminoácidos, en particular prolina y asparagina. Los aminoácidos son transportados dentro de la célula por tres sistemas de transporte potenciales, uno que depende de la fuerza motriz protón, el segundo por hidrólisis de ATP y el tercero por un sistema antipuerto. Todos estos sistemas dependen del uso de energía. *Lactococcus lactis* puede transferir oligopéptidos dentro de la célula. Dentro de las células, los péptidos se rompen por diferentes peptidasas: aminopeptidasas, peptidasas de prolina, dipeptidasas, tripeptidasas y endopeptidasas.

En la leche, la concentración de aminoácidos no permite el crecimiento de *Lc. lactis* por encima de 8 log UFC/mL. Para continuar su desarrollo, la bacteria tiene que usar las caseínas. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* tiene la posibilidad de excretar una endoproteasa (PrpP), que se cuelga en la pared celular bacteriana. Se han caracterizado dos tipos de PrpP, PrpPI y PrpPIII,

siguiendo su objetivo (β o α caseína). La acción de estas enzimas puede conducir a la generación de péptidos de tamaño pequeño (alrededor de cinco aminoácidos), responsables de la aparición de sabores amargos en los productos lácteos. El uso de cepas negativas de proteasa es una forma de reducir la incidencia de este defecto. Con frecuencia, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* no tienen actividad proteolítica extracelular, por lo que pueden considerarse bacterias que no generan sabor amargo.

Otra actividad metabólica que se ha reportado en algunas cepas de *Lc. lactis* es que pueden producir homopolisacáridos y heteropolisacáridos. Además, *Lactococcus lactis* tiene la posibilidad de liberar bacteriocinas, como la nisina o lacticina, que pueden ejercer una influencia letal sobre las bacterias asociadas (otros lactococos, lactobacilos) o micromicrobiota no deseada (*Staphylococcus*, *Bacillus*, *Listeria*) (Demarigny, 2014).

Muchas funciones metabólicas y fisiológicas están asociadas con la presencia de plásmidos dentro de la célula. De acuerdo con (Mills *et al.*, 2006), *Lc. Lactis* puede incluir una amplia gama de plásmidos. Estos plásmidos confieren a la célula muchas ventajas selectivas, tales como resistencias a metales y antibióticos, resistencia a fagos, actividades proteolíticas, utilización de citrato, actividad de β -galactosidasa, etc.

El crecimiento de *Lc. Lactis* en leche depende directamente de la facilidad para usar lactosa y aminoácidos de las caseínas. La concentración de lactosa es suficiente para alcanzar un nivel superior a 9 log UFC/mL. Con respecto a los compuestos nitrogenados, el nitrógeno no proteico permite el crecimiento de la población celular hasta 8.2–8.3 log (UFC/mL). A partir de entonces, la bacteria tiene que usar los aminoácidos de las caseínas. Sin embargo, la liberación de péptidos pequeños como consecuencia de la acción del PrtP es demasiado lenta para mantener una tasa de crecimiento tan rápida como en el primer período. Luego se observa un crecimiento diaúxico. Mientras que la disminución del pH de la leche es débil durante el primer período (alrededor de 0.2–0.3 unidades), es más importante a partir de entonces (1.2 a 1.4 unidades). Esto conduce a la coagulación de la leche. Las cepas de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* frecuentemente no pueden hidrolizar las caseínas, su crecimiento en la leche no permite ninguna coagulación. Incluso, si *Lc. Lactis* requiere muchos nutrientes para desarrollarse, es fácil de cultivarse como cepa pura. Muchos medios ricos y selectivos están disponibles para apoyar su crecimiento (M17, Elliker). En medios complejos, como la leche cruda, los requerimientos nutricionales específicos de *Lc. Lactis* favorecen el crecimiento de otras poblaciones microbianas. Y las colonias no deseadas con frecuencia exhiben los mismos morfotipos.

Lactococcus lactis se usa esencialmente para producir productos lácteos fermentados, particularmente se emplea en la fabricación de queso. El queso cheddar, la mayoría de los quesos holandeses, el camembert y los quesos de leche de cabra de granja son ejemplos de quesos elaborados con una mezcla de cepas de *Lactococcus*. La adición de *Lactococcus* a la

leche para hacer quesos tiene diferentes objetivos. Durante el drenaje o el prensado, el desarrollo de la bacteria se asocia con una liberación de ácido láctico, una disminución del pH y una disminución del potencial redox (por debajo de 50 mV). Esto contribuye al drenaje de la cuajada. En general, los lactococos reducen el pH para alcanzar un valor final que oscila entre 4,4 y 4,8. Además, se supone que la colonización de la cuajada por una gran cantidad de bacterias (más de 8 log UFC/g) evita el desarrollo microbiano no deseado.

Después del período de acidificación, los lactococos son generalmente menos activos. La temperatura, el agotamiento del azúcar y, a medida que avanza la maduración, la tasa de sal, son cada vez menos favorables. Como consecuencia, el nivel de *Lactococcus* disminuye de más de 8 log UFC/g a menos de 7 UFC/g. Esta disminución resulta de la autodegradación temprana del peptidoglucano por hidrolasas específicas, llamadas autolisinas. Esto conduce a la destrucción de la célula y a la liberación del contenido intracelular fuera de la célula. Luego se liberan muchas enzimas (lipasas, esterases, peptidasas, ADNasas, etc.) que contribuyen a la maduración del queso. La capacidad autolítica es, por lo tanto, una aptitud de interés tecnológico, que se selecciona cuidadosamente cuando se desarrollan nuevos iniciadores.

Como se indicó, la célula de *Lactococcus* incluye muchas enzimas proteolíticas que pueden hidrolizar caseínas y péptidos. Las bacterias poseen también algunas enzimas implicadas en la degradación de los aminoácidos. Las transaminasas convierten los aminoácidos en α -cetoácidos, que luego se pueden transformar en aldehídos, alcoholes, hidroxiácidos, todos los compuestos aromáticos o precursores de aromas. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* también incluye una arginina deshidrolasa, que permite la liberación de amoníaco de la arginina. Se ha especificado que la biovar *diacetylactis* puede producir diacetilo a partir de citrato. Esta molécula es responsable del aroma a nuez, cremoso y mantecoso que se desarrolla en los quesos, cremas y mantequillas.

Lactococcus lactis no muestra actividad esterasa o lipasa fuera de la célula. Sin embargo, se descubrieron algunas enzimas intracelulares, cuya influencia en la lipólisis de la matriz del queso es bastante escasa, incluso después de la autólisis. Además, se ha reportado que, en algunos casos, *Lc. lactis* ssp. *lactis* podría ser responsable de la aparición de un aroma afrutado no deseado en los quesos Cheddar como consecuencia de la producción de ésteres. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* también exhibe capacidades enzimáticas. Esta subespecie se usa con frecuencia para contrarrestar la producción de compuestos amargos por *Lc. lactis* ssp. *lactis* ya que frecuentemente agota cualquier actividad proteolítica extracelular, al consumir los péptidos amargos generados por *Lc. lactis* ssp. *lactis*.

Lactococcus lactis es, por lo tanto, una herramienta tecnológica esencial para producir quesos, ya sea para acidificar la cuajada o para contribuir a sus características organolépticas.

1.3.2. *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus es una de las BAL más utilizadas en la industria láctea, ampliamente empleada como cultivo adicionado en la fermentación de yogur y la fabricación de queso. El estudio genético del *Streptococcus*, revela que gran cantidad de sus genes provienen de otras especies lácticas tales como *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus delbrueckii*, lo que contribuye a su adaptación en leche. Más allá del entorno lácteo, las cepas de *S. thermophilus* también se han aislado de fuentes vegetales (Michaylova *et al.*, 2007).

Streptococcus thermophilus son bacterias Gram positivas, de 0.7 a 0.9 μm de diámetro y existen en pares hasta cadenas largas. Las células crecen bien entre 37-40 °C, pero también a 52 °C. No crecen a 15 °C. Son anaerobias facultativas y en un extracto de glucosa pueden reducir el pH a 4.0 y producir ácido L (+) láctico. Fermentan la fructosa, manosa y lactosa, pero no suelen fermentar galactosa. Las células pueden sobrevivir a 60°C por 30 min (Hutkins and Morris, 1987). Hidrolizan la mayor parte de las proteínas del suero, es decir, la β -lactoglobulina y la α -lactalbumina y es utilizado en la producción de queso ya que provoca una rápida acidificación al transformar la glucosa en ácido láctico (Iyer *et al.*, 2010).

Una de las funciones principales de *S. thermophilus* en la fermentación de la leche es proporcionar una acidificación rápida. (Marino, Maifreni and Rondinini, 2003) encontraron a *S. thermophilus* como la especie predominante y de acidificación más rápida entre las BAL durante la maduración del queso Montasio artesanal y concluyeron que la tasa de acidificación es un rasgo metabólico dependiente de la cepa que puede estar influenciado por varios factores como el metabolismo de lactosa-galactosa, el sistema proteolítico y la actividad ureolítica. Además de ácido láctico, también produce bajos niveles de formiato, acetoína, diacetilo, acetaldehído y acetato como productos finales adicionales (Ott, Germond and Chaintreau, 2000).

Por lo tanto, el papel de *S. thermophilus* en la fermentación de la leche no está relacionado solo con la producción de ácido láctico; también tiene varias otras propiedades tecnológicas importantes, como el metabolismo del azúcar, la utilización de galactosa, la actividad proteolítica y la actividad de la ureasa. Este rendimiento tecnológico diverso representa el grado de diversidad fenotípica existente dentro de la especie. Además, la investigación sobre la fisiología de *S. thermophilus* ha revelado información importante sobre la base genética de muchos de estos rasgos.

S. thermophilus tiene una capacidad limitada para utilizar carbohidratos, y su función principal en la fermentación industrial de lácteos es la conversión de lactosa en lactato a temperaturas elevadas. A diferencia de muchas otras bacterias Gram-positivas, *S. thermophilus* prefiere la lactosa a la glucosa como fuente primaria de carbono y energía, lo que ha llevado a la adaptación del mecanismo de control global hacia el ajuste fino de la absorción de lactosa y el

catabolismo posterior por glucólisis. *S. thermophilus* cometaboliza sacarosa y lactosa, usando un sistema de fosfotransferasa (PTS) y un sustrato que no es PTS respectivamente, lo que indica que la utilización de estos carbohidratos no está (fuertemente) jerárquicamente controlada.

En *S. thermophilus*, la lactosa es transportada a la célula por una permeasa de lactosa (LacS), que funciona como un antiportador de lactosa-galactosa o como un sistema de simportador galactosida-protón (Foucaud and Poolman, 1992). Aunque la lactosa se transporta eficientemente a la célula y posteriormente se hidroliza por una galactosidasa intracelular, muchas cepas de *S. thermophilus* utilizadas en la industria láctea fermentan solo a la glucosa de la lactosa, mientras que el resto de galactosa se excreta en el medio en cantidades equimolares con la absorción de lactosa (Thomas and Crow, 1984; Hutkins, Morris and McKay, 1985). La reacción de intercambio, que es altamente favorecida con un exceso de galactósidos a cada lado de la membrana celular, conduce a un fenotipo galactosa negativo de *S. thermophilus* en la leche (Poolman, 1993). Aunque se encontró actividad de fosfogalactosidasa en algunas cepas de *S. thermophilus*, lo que sugiere vías alternativas para el transporte de lactosa y la fermentación de galactosa, la vía de Leloir parece ser la ruta más ubicua para el catabolismo de galactosa en *S. thermophilus* (Hemme, Nardi and Jette, 1980). Esta vía consiste en un regulador (GalR), una galactoquinasa (GalK), una galactosa 1-fosfato uridililtransferasa (GalT), una UDP-glucosa 4-epimerasa (GalE) y una mutarotasa (GalM) que forman parte del grupo de genes galRKTEM, y permite la conversión de galactosa en glucosa 1-fosfato que puede ser dirigida a la glucólisis por la fosfoglucomutasa o alternativamente usado en vías anabólicas (Willem de Vos, 1996).

Las BAL son nutricionalmente exigentes y necesitan un suministro exógeno de aminoácidos para iniciar el crecimiento. El sistema proteolítico de *S. thermophilus* comprende más de 20 enzimas proteolíticas, y está compuesto de (i) una proteasa extracelular anclada capaz de hidrolizar caseínas, (ii) un conjunto de sistemas de transporte de aminoácidos y péptidos necesarios para la importación de aminoácidos y (iii) un conjunto de peptidasas intracelulares implicadas en la hidrólisis de péptidos derivados de caseína esenciales para diversos procesos de limpieza (Hols *et al.*, 2005).

La capacidad de *S. thermophilus* para satisfacer su requerimiento de aminoácidos durante el crecimiento en la leche es diferente de la de otras especies de BAL. Su requerimiento de aminoácidos se satisface por la eficiencia de su capacidad biosintética y por la cooperación con otras especies bacterianas que crecen en asociación en el entorno lácteo, como *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Algunas cepas de *S. thermophilus* parecen ser auxotrófas para al menos cuatro aminoácidos, Glu, Cys, His y Met, mientras que otras BAL son más exigentes (Letort and Juillard, 2001).

S. thermophilus también se ha estudiado por su capacidad para hidrolizar las principales proteínas de suero, la β -lactoglobulina (BLG) y la α -lactoalbúmina (ALA), para aumentar su digestibilidad e hidrolizar péptidos alergénicos (El-Zahar *et al.*, 2003).

Dado que la leche contiene bajas cantidades de aminoácidos libres y péptidos cortos, el crecimiento óptimo de *S. thermophilus* en la leche requiere hidrólisis de caseínas, internalización e hidrólisis de los péptidos resultantes, o biosíntesis de aminoácidos. El catabolismo de los aminoácidos juega un papel importante en el suministro de precursores para la biosíntesis de aminoácidos, nucleótidos, vitaminas, y la producción de una gran cantidad de compuestos aromáticos clave (Iyer *et al.*, 2010).

El genoma de *S. thermophilus* contiene genes de aminotransferasa, a saber, tres aminotransferasas de aspartato (aspC1, aspC2, aspC3), un aminoácido aromático aminotransferasa (araT) y un aminoácido de cadena ramificada (BCAA) aminotransferasa (bcaT), así como treonina codificada con actividad de aldolasa (TA) (Chaves *et al.*, 2002). La actividad de la glutamatodeshidrogenasa, que produce α -cetoglutarato, un compuesto de la transaminación de aminoácidos. Además, esta actividad también produce compuestos aromáticos derivados de leucina, fenilalanina y metionina (Helinck *et al.*, 2004).

El componente característico del sabor en el yogur, el acetaldehído, también es esencialmente un producto del catabolismo de aminoácidos (Ogawa, Gomi and Fujioka, 2000). El acetaldehído se puede producir directamente del metabolismo de la lactosa como resultado de la descarboxilación del piruvato, o mediante la conversión de varios aminoácidos a través del piruvato como un intermediario metabólico. En el caso de *S. thermophilus*, la treonina se puede convertir directamente en acetaldehído y glicina mediante la actividad treonina aldolasa (Chaves *et al.*, 2002). (Xanthopoulos, Petridis and Tzanetakis, 2001) observaron que las concentraciones de acetaldehído variaban de 2.5 a 6.5 ppm en la leche fermentada con *S. thermophilus* y de 6.5 a 15 ppm para *Lb. bulgaricus* después de la incubación a 42 ° C.

La capacidad de *S. thermophilus* para producir polisacárido extracelular (EPS) es importante para la industria láctea, ya que mejora la textura de los productos lácteos fermentados como el yogur. EPS consta de polímeros de heterosacáridos, principalmente de monómeros de galactosa, glucosa y ramnosa, pero también se han informado sobre polímeros que contienen restos de acetil-galactosamina, fucosa y galactosa acetilada (Laws, Gu and Marshall, 2001). La producción de EPS por *S. thermophilus* depende tanto de la cepa como de la tasa de crecimiento. La producción también se ve significativamente afectada por los medios y las condiciones de crecimiento, como la temperatura, el pH, la fuente de carbono y su concentración, y la relación carbono-nitrógeno (Degeest, Vaningelgem and De Vuyst, 2001).

Las bacteriocinas de las cepas de *S. thermophilus*, conocidas como termofilinas, son termoestables y son activas en un amplio rango de valores de pH. Además, de dicha

estabilidad, son seguros debido al estado GRAS de *S. thermophilus* (Somkuti and Steinberg, 2003). Se han caracterizado las siguientes bacteriocinas: termofilina 347, termofilina A, termofilina T, termofilina 13, bacteriocina de *S. thermophilus* 81 (con un amplio espectro inhibitorio y una nueva bacteriocina de *S. thermophilus* Adria 91L 580 que inhibe *Clostridium tyrobutyricum* aislado de un queso duro (Iyer *et al.*, 2010).

1.4. Microbiota secundaria

1.4.1. Bacterias ácido lácticas no adicionadas (NSBAL)

Las NSBAL son lactobacilos y pediococos mesofílicos, que forman una porción significativa de la microbiota de la mayoría de las variedades de queso durante la maduración. No son parte de la microbiota inicial normal; generalmente no crecen bien en la leche (Cogan *et al.*, 1997), y no contribuyen a la producción de ácido en el queso. Los lactobacilos se dividen tradicionalmente en dos grupos: homofermentativo y heterofermentativo (McDonald *et al.*, 1987). Los lactobacilos NSBAL que se encuentran regularmente en el queso son miembros del grupo heterofermentativo. Muchas especies de lactobacilos mesofílicos se han aislado del queso, pero las más frecuentes son *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* y *Lb. curvatus* (Jordan and Cogan, 1993; Coppola *et al.*, 1997; Fitzsimons *et al.*, 1999). *Pediococcus acidilactici* y *Pediococcus pentosaceus* son los pediococos más frecuente en el queso.

La fuente de energía utilizada por NSBAL para el crecimiento aún no se ha definido claramente, ya que en el momento del crecimiento más activo de las NSBAL, la lactosa generalmente se ha agotado (McCarthy *et al.*, 2015). Las NSBAL puede transformar el isómero L de lactato en el isómero D (Fox, Lucey and Cogan, 1990), pero es poco probable que actúe como fuente de energía. El citrato está presente en el queso Cheddar joven (aproximadamente 8 mmol / kg y algunos investigadores han sugerido que tal vez sea una fuente potencial de energía para NSBAL (Jimeno, Lazaro and Sollberger, 1995). Sin embargo, un estudio en queso Cheddar indicó que había muy poca o ninguna utilización de citrato en tres de los cuatro quesos investigados (Jordan and Cogan, 1993), lo que implica que, al menos en algunos casos, se pueden alcanzar altas densidades de NSBAL sin utilización de citrato.

Las células de las NSBAL suelen estar presentes en densidades iniciales de aproximadamente 10^6 UFC/g en la mayoría de las variedades de queso, pero los niveles disminuyen durante la maduración debido a la actividad hidrolítica de sus propias enzimas autolisinas (V. L. Crow *et al.*, 1995).

La fuente de NSBAL en el queso ha sido objeto de mucho debate, ya que se encuentran en los quesos elaborados con leche cruda y pasteurizada. En el caso de los quesos tradicionales de la Unión Europea elaborados con leche cruda, es probable que la fuente principal sea la leche. Sin embargo, los quesos fabricados con leche pasteurizada, como el Cheddar, también contienen NSBAL. La fuente probable de NSBAL en estos quesos es a través de la

contaminación posterior a la pasteurización o el fracaso de la pasteurización para inactivar completamente a las NSBAL (Martley and Crow, 1993; Grappin and Beuvier, 1997).

La microbiota del queso, particularmente las hechas con leche cruda, es muy compleja. Por lo tanto, es probable que se produzcan muchas interacciones entre las cepas de NSBAL y otras bacterias en el queso. El estudio de estas interacciones es difícil debido al complejo ecosistema microbiológico que se encuentra en el queso (Martley and Crow, 1993).

1.4.2. Bacterias ácido propiónicas (PAB)

Las PAB crecen en muchas variedades de queso durante la maduración, y son la microbiota característica asociada con los quesos de tipo suizo como: Emmental, Gruyere, Appenzell y Comté. Las PAB son bacterias Gram positivas en forma de bacilos cortos que metabolizan el lactato generando lactato y acetato, así como CO₂ y H₂O. Respecto a la microbiología del queso, se reconocen cinco especies importantes: *P. freudenreichii*, *P. jensenii*, *P. thoenii*, *P. acidipropionici* y *P. cyclohexanicum* (Vorobjeva, 1999).

En el queso fabricado con leche cruda, hay suficientes PAB. Sin embargo, con la pasteurización, pueden llegar a estar presentes en niveles máximos de 10³ UFC/g en el queso después de la fabricación (Vorobjeva, 1999). Durante la maduración del queso, la temperatura debe aumentar de 18 a 22 °C durante un breve período de tiempo para iniciar la fermentación propiónica, con un aumento resultante en los niveles de PAB de 10⁸ a 10⁹ UFC/g de queso (Frohlich-Wyder and Bachmann, 2004). Los quesos tipo suizo se someten a una fermentación propiónica durante 20 a 30 días después de la fabricación, así los ácidos propiónico y acético producidos contribuyen al desarrollo de los sabores característicos de estos quesos, mientras que el CO₂ desprendido es responsable de los grandes ojos producidos (Steffen *et al.*, 1993). Después del desarrollo de suficientes ojos, el queso se almacena a una temperatura más baja para retrasar el crecimiento y el metabolismo de las PAB. Se demostró que el crecimiento de las PAB en un medio a base de leche fue pobre (Baer, 1995); sin embargo, el crecimiento podría ser estimulado después de la proteólisis por el cuajo y las BAL. Recientemente se informó (Piveteau, Condon and Cogan, 2000) que el crecimiento de las PAB en la leche o el suero no se produce a menos que la densidad celular inicial sea mayor a 10⁶ UFC/mL.

Las interacciones entre las PAB y otras bacterias juegan un papel importante durante la maduración del queso. Alekseeva *et al.* (1983) informaron que nueve de veintidós cepas de BAL analizadas eran antagonistas para PAB. *L. lactis ssp. lactis* tuvo el mayor efecto inhibitorio, mientras que *L. lactis ssp. cremoris*, *S. thermophilus* y *Lb. helveticus* fueron compatibles con *P. freudenreichii* y *P. shermanii*. Jimeno, Lazaro and Sollberger (1995) informaron que *Lb. rhamnosus* y *Lb. casei* inhibió el crecimiento de *P. freudenreichii* en queso duro tipo suizo. Piveteau, Condon and Cogan (2000) estudiaron la interacción entre 14 BAL, incluidas las cepas de *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. lactis*, *S. thermophilus* y *Lc. lactis* y cuatro cepas de PAB,

entre las que se evaluaron *P. freudenreichii* o *P. acidipropionici*, en suero. La estimulación o inhibición se juzgó por el efecto sobre la tasa de crecimiento y la biomasa celular final. No se observó inhibición y el crecimiento de las cuatro cepas de PAB fue estimulado por *Lb. helveticus* y *S. thermophilus*. Las consecuencias de dicha interacción estimuladora y/o inhibidora entre las PAB y otros microorganismos deben considerarse debido al impacto de tales interacciones en la calidad del queso.

1.5. Cambios durante la maduración del queso

A diferencia de muchos productos alimenticios procesados para los cuales la estabilidad es el criterio clave, el queso es un producto bioquímicamente dinámico y sufre cambios significativos durante su período de maduración. La cuajada recién hecha de diversas variedades de queso tiene sabores suaves y en gran medida similares, y es durante el período de maduración que se producen compuestos de sabor que son característicos de cada variedad. Originalmente se pensaba que el sabor del queso resultaba de un único compuesto o clase de compuestos, ahora se acepta generalmente que el sabor de la mayoría de los quesos resulta de la combinación de una gran cantidad de compuestos presentes en las proporciones y concentraciones correctas, dando origen a la "teoría del equilibrio de componentes" (Bosset and Gauch, 1993).

Las principales vías bioquímicas que se llevan a cabo en la maduración del queso son las siguientes: el metabolismo de la lactosa, lactato y citrato residuales, liberación de ácidos grasos libres (FFA) o lipólisis, degradación de la matriz de caseína a una gama de péptidos y aminoácidos libres (FAA) denominada proteólisis, reacciones involucradas en el catabolismo de FAA y reacciones catabólicas asociadas.

En estos procesos bioquímicos las enzimas tienen un papel importante durante la maduración. Estas enzimas incluyen lipasas y peptidasas.

1.5.1. Metabolismo de lactosa, lactato y citrato

El metabolismo de la lactosa a lactato es esencial para la producción de todas las variedades de queso. Dependiendo del tipo de BAL, la lactosa es metabolizada por las vías glucolíticas o fosfoctolasa (Fox and Wallace, 1997). Los principales productos del metabolismo de la lactosa son L- o D-lactato o una mezcla racémica de ambos, aunque algunas cepas, por ejemplo, *Leuconostoc* spp., producen otros productos, como etanol (Vedamuthu, 1994). Ciertas BAL (por ejemplo, *Streptococcus thermophilus*) no pueden metabolizar la galactosa de lactosa y deben crecer con microorganismos galactosa positivos (Gal +) (como Gal + lactobacilos), o la galactosa se acumulará en la cuajada. El lactato contribuye al sabor de los quesos de cuajada ácida y probablemente también contribuye al sabor de las variedades de queso madurado, particularmente al inicio de la maduración. La acidificación del queso tiene un efecto indirecto importante en el sabor, ya que determina la capacidad de amortiguación del queso y, por lo

tanto, el crecimiento de varios microorganismos durante la maduración y la actividad de las enzimas involucradas en la maduración del queso. Dependiendo de la variedad, el lactato también puede ser metabolizado por varias vías a varios compuestos que contribuyen al sabor del queso (Figura 2).

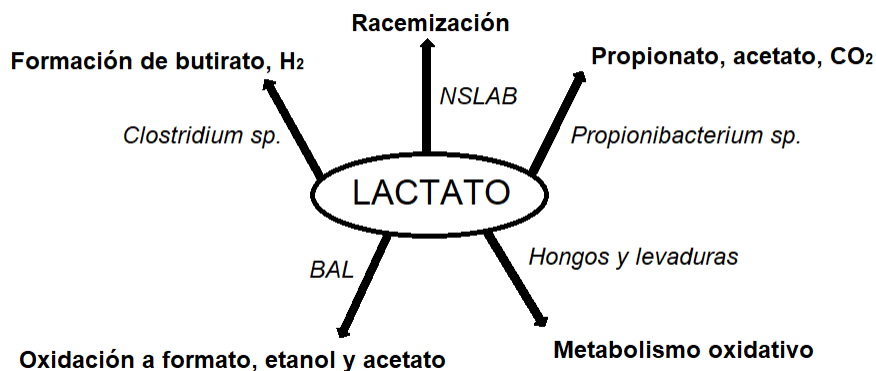


Figura 2. Rutas generales para el metabolismo del lactato en el queso. Adaptado (McSweeney and Sousa, 2000)

La microbiota no adicionada del queso Cheddar, tipo holandés y similares isomeriza el L-lactato producido por *Lactococcus* a D-lactato (Thomas and Crow, 1983). La producción de D-lactato durante la maduración es probablemente mayor en los quesos elaborados con leche cruda. La racemización del lactato tiene poco impacto en el sabor, pero puede tener consecuencias nutricionales indeseables, particularmente para los bebés. La solubilidad del Ca-D-lactato es menor que la del Ca-L-lactato, y el Ca-D-lactato puede cristalizarse en el queso formando manchas blancas, particularmente en las superficies cortadas (Fox, Lucey and Cogan, 1990).

El lactato puede oxidarse a acetato y CO₂ (Fox, Singh and McSweeney, 1995) mediante el metabolismo de los lactococos (Figura 3). El acetato, un importante compuesto aromatizante en muchos quesos, además de formarse a partir de la lactosa por las bacterias ácido lácticas también puede formarse como resultado del metabolismo del citrato y el lactato o como producto del catabolismo de aminoácidos.

La generación de gas y los sabores desagradables en ciertos quesos resultan del metabolismo del lactato (o glucosa) por *Clostridium* sp. a ácido butírico y H₂. Estos defectos pueden evitarse mediante una buena higiene, la adición de lisozima, o mediante la eliminación física de las esporas mediante microfiltración.

La leche contiene aproximadamente 8 mmol/L de citrato, la mayoría de los cuales se pierde en el suero durante la fabricación del queso, ya que el 94% del citrato se encuentra en la fase soluble de la leche. Sin embargo, la baja concentración de citrato en la cuajada de queso (10 mmol/Kg) es de gran importancia, ya que puede ser metabolizado a varios compuestos de sabor volátiles por ciertas BAL (citrato positivo, Cit +, lactococos y *Leuconostoc* sp.) por las vías resumidas en la Figura 4. El citrato no es metabolizado por *S. thermophilus* ni por lactobacilos

termófilos, sino que es metabolizado por ciertos lactobacilos mesofílicos de la microbiota NSBAL. Los microorganismos Cit + no utilizan el citrato como fuente de energía, sino que se metaboliza con lactosa o algún otro azúcar. Los principales compuestos aromatizantes producidos en el metabolismo del citrato son acetato, diacetilo, acetoína y 2,3-butanodiol.

El diacetilo generalmente se produce solo en pequeñas cantidades (1–10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en la leche), pero la acetoína generalmente se produce en cantidades mucho más altas (10–50 veces más altas que las concentraciones de diacetilo). El acetato se produce a partir de citrato en concentraciones equimolares. El diacetilo podría producirse directamente a partir de pirofosfato de acetaldehído-tiamina (TPP) y acetil-CoA por acción enzimática, pero la diacetil sintetasa nunca se ha identificado claramente en BAL. Alternativamente, el α -acetolactato, formado a partir de la reacción de piruvato y acetaldehído-TPP, es muy inestable y podría descarboxilarse de forma no oxidativa para formar acetoína, o oxidativamente para formar diacetilo. Sin embargo, dado que el potencial de reducción de la oxidación del queso es bajo, no está claro cómo el diacetilo podría ser producido oxidativamente por las BAL. La acetoína se produce a partir de α -acetolactato por la acción de la acetolactato descarboxilasa. Los lactococos Cit + y *Leuconostoc* sp. generan diferentes productos en el metabolismo del citrato; los primeros, producen diacetilo, acetoína y CO_2 además del lactato; mientras que los segundos producen grandes cantidades de lactato y acetato. El acetato se produce a partir de acetilfosfato con la producción concomitante de 1 mol de ATP, lo que resulta en un crecimiento más rápido del microorganismo.

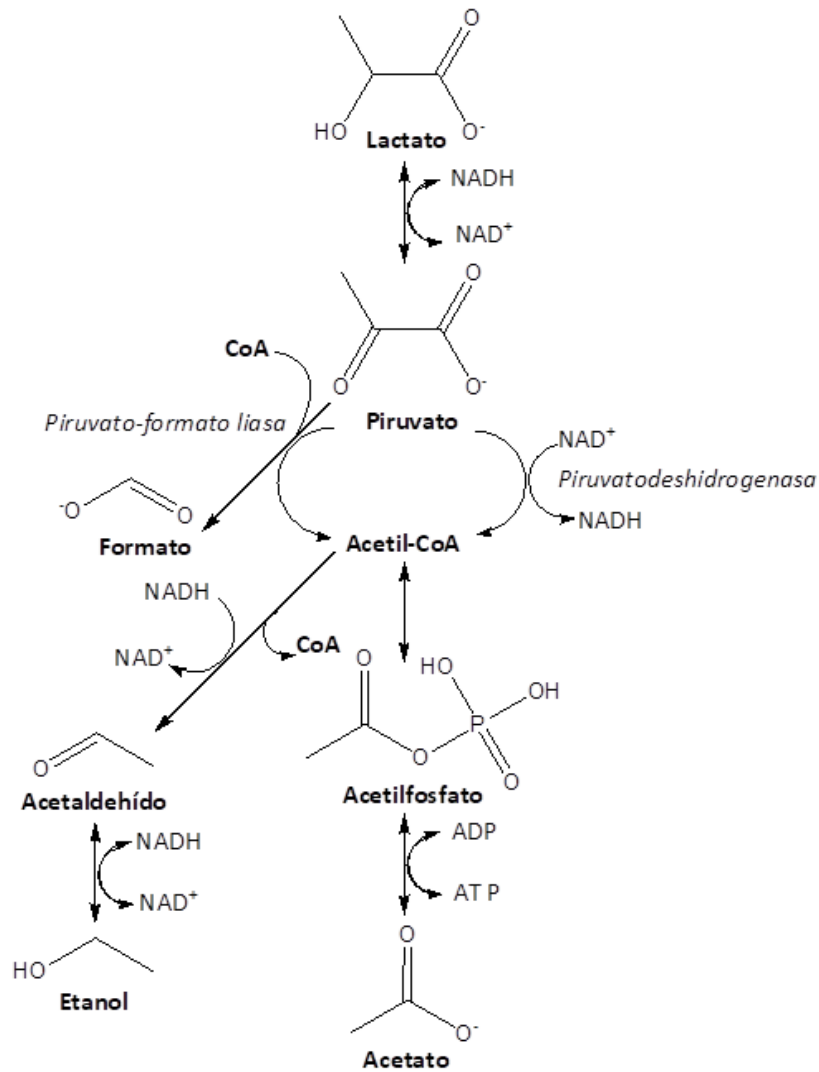


Figura 3. Rutas metabólicas del lactato por *Lactococcus*. Adaptado (McSweeney and Sousa, 2000)

El metabolismo del citrato es de particular importancia en los quesos de tipo holandés donde el CO_2 producido es responsable de la formación de los ojos. El dióxido de carbono producido por la fermentación de citrato puede causar una apertura indeseable y el defecto de "cuajada flotante" en los quesos Cheddar y Cottage. El diacetilo es un compuesto aromático importante en varias variedades, incluidos los quesos de tipo holandés, Quarg y requesón. El diacetilo se puede convertir en acetoína y 2,3-butanodiol y 2-butanona, que también son compuestos importantes en el sabor en algunas variedades de queso (Dimos, Urbach and Miller, 1996).

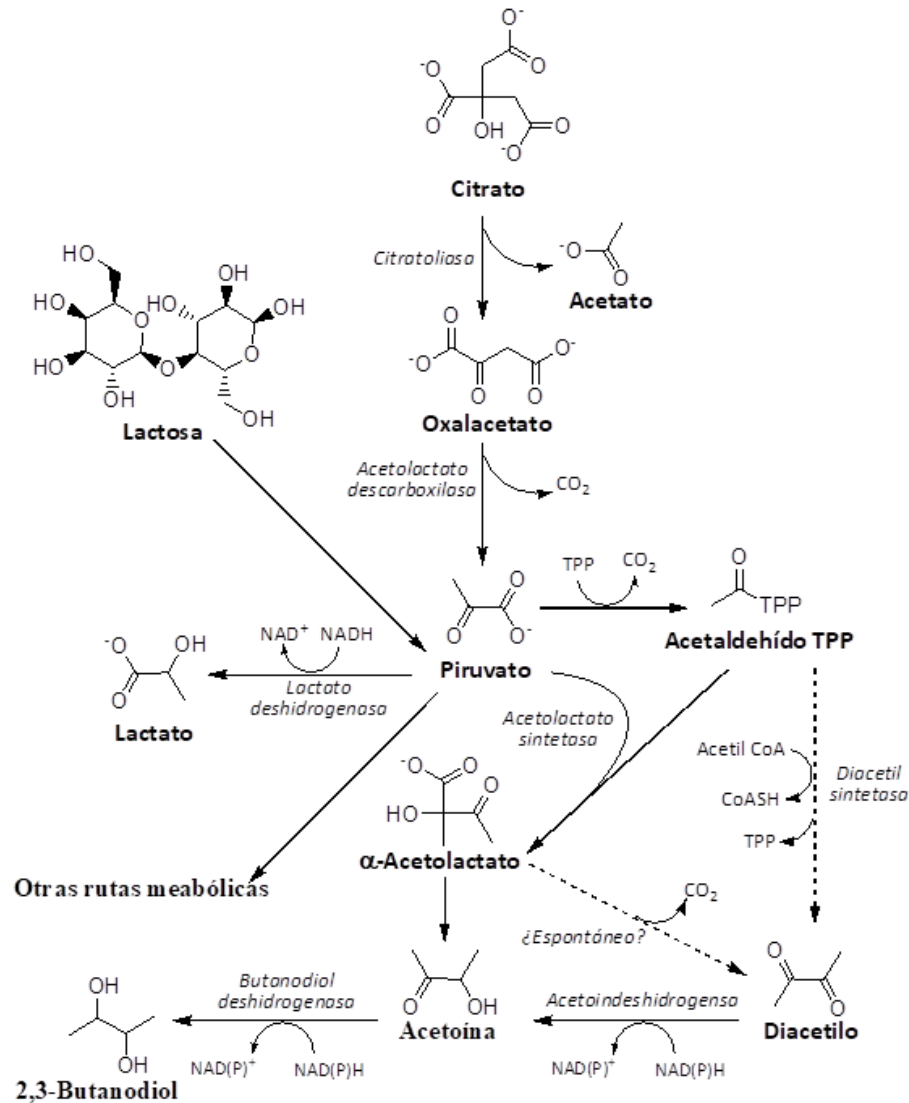


Figura 4. Rutas metabólicas del citrato en lactococos citrato positivos y *Leuconostoc* sp. Adaptado (McSweeney and Sousa, 2000)

1.5.2. Lipólisis y metabolismo de los ácidos grasos

La grasa de la leche es esencial para el desarrollo del sabor en el queso durante la maduración. Los quesos que normalmente se elaboran con leche entera desarrollan un sabor más intenso que aquellos que se elaboran con leche descremada o leche en la que la grasa ha sido reemplazada por otros lípidos (Foda *et al.*, 1974). De hecho, el desarrollo satisfactorio del sabor es uno de los principales problemas encontrados en la fabricación de variantes reducidas en grasa de las variedades de queso establecidas.

Como en todos los alimentos ricos en grasas, los lípidos presentes en el queso pueden sufrir degradación oxidativa o hidrolítica. La oxidación de los lípidos en el queso es probablemente limitada debido su potencial negativo de óxido-reducción (Fox, Singh and McSweeney, 1995).

Sin embargo, la hidrólisis enzimática de los triglicéridos a ácidos grasos y glicerol, mono y/o diglicéridos, es esencial para el desarrollo del sabor en muchas variedades de queso.

La grasa de la leche contiene altas concentraciones de ácidos grasos de cadena corta e intermedia que, cuando se liberan por lipólisis, contribuyen directamente al sabor del queso. Las proporciones de ácidos grasos libres C_{6:0} a C_{18:3} en el queso Cheddar parecen ser similares a las de la grasa de la leche, pero el ácido butírico libre (C_{4:0}) ocurre a una concentración relativamente mayor en el queso que en la grasa de la leche, lo que sugiere que el butirato se libera selectivamente por las lipasas presentes o se sintetiza por la microbiota del queso (Bills and Day, 1964). La especificidad de la lipasa también influye en el desarrollo del sabor del queso, ya que los ácidos grasos de cadena corta (que tienen el mayor impacto en el sabor) generalmente se encuentran en la posición sn-3 de los triglicéridos. El pH del queso también influye en la manera en que los ácidos grasos libres (FFA) impactarán en el sabor, ya que los ácidos carboxílicos y sus sales se perciben de manera diferente.

La lipólisis extensa se considera indeseable en muchas variedades maduradas, como Cheddar, Gouda y quesos suizos. Los altos niveles de ácidos grasos en estos quesos conducen a la ranciedad. Sin embargo, las bajas concentraciones de FFA contribuyen al sabor de estos quesos, particularmente cuando se equilibran correctamente con los productos de proteólisis u otras reacciones (Bosset and Gauch, 1993; Fox, Singh and McSweeney, 1995). Además de su impacto directo en el sabor del queso, los FFA también actúan como moléculas precursoras de una serie de reacciones catabólicas que conducen a la producción de otros compuestos de sabor (Fig. 5).

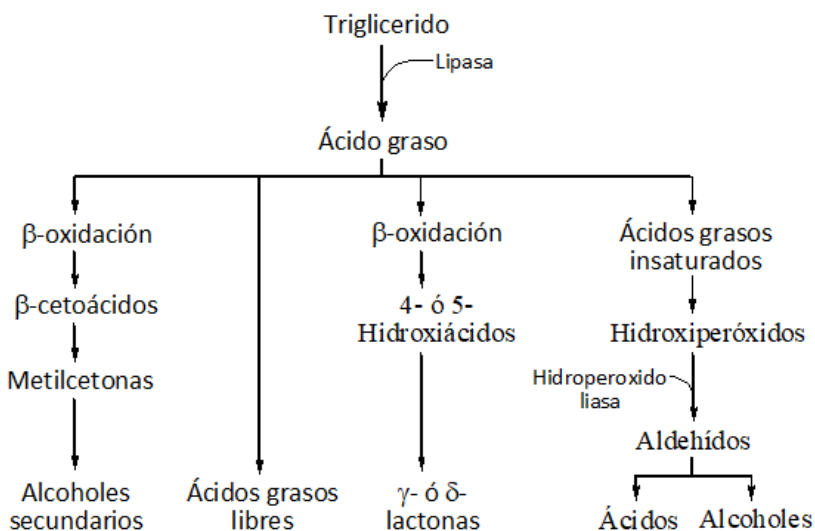


Figura 5. Vías generales para el catabolismo de los ácidos grasos libres en el queso. Adaptado (McSweeney and Sousa, 2000)

Las lipasas en el queso se originan a partir de diversas fuentes: la leche, el cuajo, las BAL, las NSBAL y, si se usan, las lipasas exógenas. El origen de las lipasas en variedades caracterizadas

por una lipólisis extensa es generalmente el cuajo. La leche contiene una lipasa nativa (lipoproteína lipasa, LPL) además de varias esterasas. LPL es inespecífica y libera ácidos grasos de las posiciones sn-1 y sn-3 de los mono-, di- o triglicéridos y de la posición sn-1 de los fosfolípidos. Más del 80% de la LPL en la leche bovina se asocia con la micela de caseína y, por lo tanto, se incorpora al retículo de la cuajada. La LPL es más importante en los quesos de leche cruda ya que su actividad se reduce por la pasteurización, aunque probablemente también contribuye a la lipólisis en los quesos de leche pasteurizada ya que se requieren 78 °C por 10 s para su completa inactivación.

La esterasa pregástrica (PGE) es una lipasa que se asocia a ciertos tipos de cuajo y es responsable de la extensa lipólisis en quesos como el provolone (Nelson, Jensen and Pitas, 1977). La PGE es secretada por las glándulas en la base de la lengua y se mezcla con el bolo alimenticio durante la masticación para dar inicio a la digestión de las grasas. PGE es una glucoproteína altamente específica para los ácidos grasos de cadena corta en la posición sn-3.

El género *Lactococcus* sp. es débilmente lipolítico, pero los lactococos pueden ser responsables de la liberación de niveles bastante altos de FFA cuando están presentes en un alto número de células o durante períodos de maduración prolongados. Se han estudiado sistemas lipasa-esterasa de las cepas de *Lactococcus*, que parecen ser intracelulares (Holland and Coolbear, 1996; Chich, Marchesseau and Gripon, 1997; Fox and Wallace, 1997). Obviamente, los lactobacilos homofermentativos (*Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* y *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis*) también producen esterasas, aunque con poca actividad lipolítica (Khalid and Marth, 1990; Khalid, El Soda and Marth, 1990).

Las bacterias psicrotróficas (p. Ej., *Pseudomonas* sp.) producen lipasas termoestables que se adsorben en los glóbulos de grasa de la leche y sobreviven a la pasteurización. Pueden contribuir a la lipólisis en el queso hecho con leche que contiene un alto número de bacterias psicrotróficas antes de la pasteurización (Sørhaug and Stepaniak, 1997).

Las lactonas son compuestos cíclicos formados por la esterificación intramolecular de ácidos grasos hidroxilados. Las lactonas principales en el queso son las lactonas γ y δ , que tienen anillos de 5 y 6 lados (respectivamente) son estables, de sabor fuerte y podrían formarse a partir de los ácidos grasos γ o δ -hidroxi correspondientes. La formación de γ y δ -lactonas a partir del hidroxilado correspondiente es espontánea una vez que el ácido graso se libera por lipólisis. Urbach (1993) informó que en los quesos elaborados con leche entera, la δ -decalactona tuvo una concentración máxima a las 14 semanas de maduración y luego disminuyó, mientras que en los quesos reducidos en grasa, el nivel de δ -decalactona se mantuvo prácticamente constante durante la maduración. La hidroxilación de ácidos grasos puede resultar del catabolismo normal de ácidos grasos, y/o pueden generarse a partir de ácidos grasos insaturados por la acción de lipoxigenasas o hidratasas (Dufosse, Latruse and Spinnler, 1994).

Los FFA pueden reaccionar con alcoholes para producir ésteres o con grupos sulfhidrilo libres para generar tioésteres. En queso Cheddar, los evaluadores profesionales de queso consideran que el sabor afrutado es un defecto, aunque los consumidores pueden estar preparados para pagar una prima por el Cheddar afrutado. Los ésteres más abundantes identificados en algunas variedades de queso son butanoato de etilo, hexanoato de etilo, acetato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo y hexanoato de metilo (Cadwallader and Singh, 2009).

1.5.3. Proteólisis

La proteólisis es el más complejo y, en la mayoría de las variedades, el más importante de los tres eventos primarios que ocurren durante la maduración del queso, y ha sido objeto de varias revisiones. La metodología para evaluar la extensión y el patrón de la proteólisis en el queso es de interés como índice de madurez y calidad del queso (Grappin, Rank and Olson, 1985; Rank, Grappin and Olson, 1985; Fox, 1989; Fox and Law, 1991; Fox and McSweeney, 1996).

La proteólisis desempeña un papel vital en el desarrollo de:

- a. cambios de textura en la cuajada de queso, debido a la ruptura de la red de proteínas, disminución de A_w a través de la unión al agua por grupos carboxilo y amino liberados y aumento del pH (en particular en variedades maduras en moho superficiales);
- b. contribución directa al sabor y quizás al mal sabor (amargor) del queso mediante la formación de péptidos y aminoácidos libres, FAA;
- c. liberación de sustratos (aminoácidos) para cambios catabólicos secundarios (por ejemplo, desaminación, descarboxilación, transaminación, desulfuración, catabolismo de compuestos aromáticos como fenilalanina, tirosina, triptófano y reacciones de aminoácidos con otros compuestos); y
- d. cambios en la matriz del queso, que facilitan la liberación de compuestos de sabor durante la masticación.

Durante la maduración, la proteólisis en el queso es catalizada por enzimas de:

- a. el agente coagulante (por ejemplo, quimosina, pepsina o proteinasas vegetales);
- b. la leche (plasmina, catepsina D y quizás otras proteinasas de células somáticas);
- c. las BAL, NSBAL (p. ej., *P. camemberti*, *P. roqueforti*, *Propionibacterium* spp., *Br. linens* y otras corineformas); y
- d. proteinasas y/o peptidasas exógenas utilizadas para acelerar la maduración.

En la mayoría de las variedades de queso, la hidrólisis inicial de las caseínas es causada por el agente coagulante y, en menor medida, por la plasmina y por las proteinasas de células somáticas (p. ej., Catepsina D), lo que resulta en la formación de grandes péptidos (insolubles en agua) o péptidos de tamaño reducido (solubles en agua) que posteriormente son degradados por el agente coagulante y las enzimas de las BAL y las NSBAL del queso. La

producción de péptidos pequeños y aminoácidos libres (FAA) es causada por la acción de proteinasas y peptidasas microbianas.

Los agentes coagulantes utilizados para coagular la leche son preparaciones crudas de proteinasas seleccionadas que a menudo poseen una actividad proteolítica considerable. La quimosina (EC 3.4.23.4) es la proteinasa principal en cuajos de animales tradicionales (88-94% de actividad de coagulación de la leche, MCA), y el resto es pepsina (EC 3.4.23.1; 6-12% de MCA) (Rothe, Harboe and Martiny, 1977). El papel principal de la quimosina (u otros coagulantes) en la fabricación de queso es hidrolizar específicamente el enlace Phe105-Met106 de la proteína estabilizadora de micelas, k-caseína, durante la coagulación de la leche.

La mayor parte del agente coagulante agregado a la leche se pierde en el suero, reteniéndose aproximadamente el 6% en la cuajada dependiendo de factores que incluyen el tipo de coagulante, la temperatura de coacción y el pH en el drenaje. El agente coagulante residual contribuye a la proteólisis en muchas variedades (Lawrence, Creamer and Gilles, 1987). En el queso cocido (por ejemplo, Emmental), la quimosina se desnaturaliza ampliamente y contribuye relativamente poco a la maduración.

La proteinasa nativa dominante de la leche, la plasmina (fibrinolisisina, EC 3.4.21.7), ha sido objeto de muchos estudios (Grufferty and Fox, 1988; Bastian and Brown, 1996). El sistema de plasmina en la leche es complejo y consiste en la enzima activa (plasmina), su zimógeno (plasminógeno), activadores de plasminógeno e inhibidores de la plasmina, todos los cuales están presentes en la leche. La plasmina, el plasminógeno y los activadores del plasminógeno están asociados con las micelas de caseína en la leche, mientras que los inhibidores de plasmina están en la fase sérica. La plasmina es altamente específica, siendo particularmente activo en α_{s2} y β -caseínas. La hidrólisis de esta última conduce a la formación de γ -caseínas (fragmentos C-terminales) y proteosa-peptonas (fragmentos N-terminales) (Farkye and Fox, 1992).

La leche también contiene una proteinasa ácida, conocida como catepsina D (EC 3.4.23.5), que es relativamente lábil al calor (inactivada a 70 °C por 10 min) y tiene un pH óptimo de 4.0 (Kaminogawa *et al.*, 1980). La especificidad de la catepsina D es similar a la de la quimosina con preferencia por la α_{s1} -caseína; pero, sorprendentemente, esta enzima tiene muy poca actividad de coagulación de la leche (McSweeney, Fox and Olson, 1995). En los quesos libres de cuajo, la formación de α_{s1} -CN (f24-199) se ha atribuido a la actividad de la proteinasa ácida de la leche (Visser and de GrootMostert A.E.A., 1977). Además de la catepsina D, otras enzimas proteolíticas de las células somáticas pueden contribuir a la proteólisis en el queso. La elastasa degrada las caseínas α_{s1} y β dentro de las seis horas posteriores a la incubación, produciendo una amplia gama de péptidos detectables por electroforesis en gel de urea-poliacrilamida (PAGE), y tiene una amplia especificidad sobre la β -caseína (Considine *et al.*, 2000); Por lo tanto, es posible que la elastasa autóctona en la leche sea importante para la proteólisis en el

queso, especialmente el queso producido a partir de leche cruda. Las proteinasas de células somáticas son capaces de activar el plasminógeno y, por lo tanto, pueden influir en la proteólisis en el queso al elevar los niveles de plasmina (Verdi and Barbano, 1991). Aunque las BAL (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) son débilmente proteolíticos, poseen un sistema muy completo de proteinasa-peptidasa que se ha estudiado y revisado ampliamente (Fox and McSweeney, 1996; Kunji *et al.*, 1996; Law and Haandrikman, 1997). Las BAL poseen una proteinasa asociada a la envoltura celular (PrtP), varias oligoendopeptidasas intracelulares (PepO) y (PepF), al menos 3 aminopeptidasas generales (PepN, PepC, PepG), una glutamil aminopeptidasa (PepA), una pirolidona carboxil peptidasa (PCP), una leucil aminopeptidasa (PepL), una prolil-dipeptidil aminopeptidasa (PepX), una prolina iminopeptidasa (PepI), aminopeptidasa P (PepP), prolinasa (PepR), una prolidasa (PepQ), una dipeptidasa general (PepV) y una general tripeptidasa (PepT); también poseen sistemas de transporte de péptidos y aminoácidos. Este sistema proteolítico es necesario para permitir que las BAL crezcan a grandes cantidades en leche (10^9 – 10^{10} UFC/mL) que contiene solo niveles bajos de péptidos pequeños y FAA. La PrtP contribuye a la formación de péptidos pequeños en el queso, probablemente al hidrolizar péptidos más grandes producidos a partir de α_{s1} -caseína por quimosina o de β -caseína por plasmina, mientras que las aminopeptidasas, dipeptidasas y tripeptidasas (que son intracelulares) se liberan después de que las células se hayan lisado y son responsables de la producción de FAA (Fig. 6).

En queso cheddar hecho con leche pasteurizada, las NSBAL inicialmente están presentes en números bajos (<50 UFC/g); sin embargo, crece rápidamente hasta alcanzar valores de 10^7 UFC/g en 4 semanas, y se mantienen relativamente constante a partir de entonces (Folkertsma, Fox and McSweeney, 1996). Por lo tanto, dependiendo de la tasa de muerte de las BAL, las NSBAL pueden dominar la microbiota viable en queso Cheddar, quesos holandeses extramaduros y otros quesos durante la mayor parte del período de maduración (Fox and McSweeney, 1996). Las NSBAL son particularmente importantes en los quesos elaborados con leche cruda, su actividad complementa la acción proteolítica de las BAL, produciendo péptidos con pesos moleculares y FAA generalmente similares (Lynch *et al.*, 1997).

En muchas variedades de queso, la microbiota secundaria se agrega intencionalmente y/o se alienta a crecer por las condiciones ambientales y tiene una amplia gama de funciones dependiendo de los organismos utilizados. *Lactococcus* Cit+ y *Leuconostoc* spp. se utilizan como iniciadores secundarios en los quesos de tipo holandés, principalmente para producir diacetilo, acetoína y CO₂.

Los productos finales de la proteólisis son FAA, cuyas concentraciones dependen de la variedad de queso, y se han utilizado como índices de maduración (McSweeney and Sousa, 2000). La concentración de FAA en el queso en cualquier etapa de maduración es el resultado neto de la liberación de aminoácidos de la caseína y su transformación en productos catabólicos.

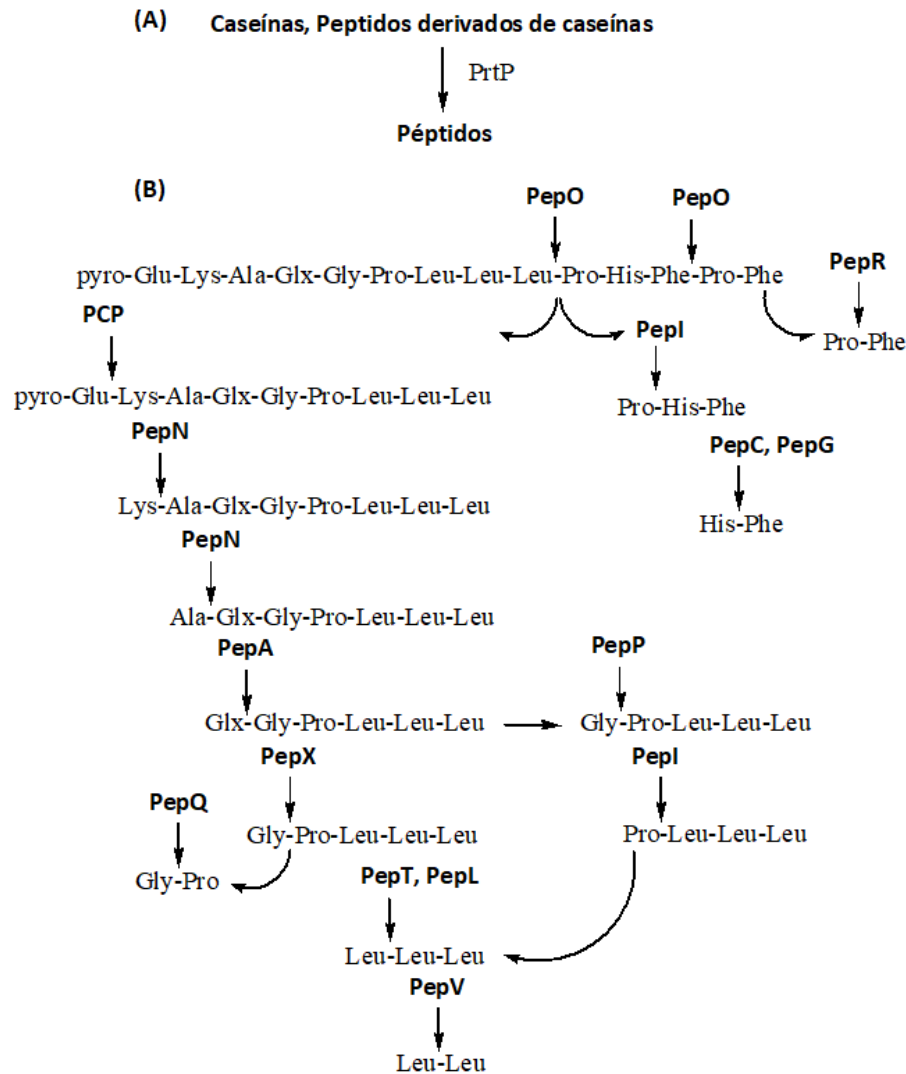


Figura 6. (A) Acción de la proteinasa asociada a la envoltura celular (PrtP) de *Lactococcus* sobre la caseína; y (b) degradación de un hipotético tetrapéptido por la acción combinada de proteasas y peptidasas lactocócicas. PepO: oligoendopeptidasa; PepI: prolil iminopeptidasa; PCP: pirrolidona carboxil peptidasa; PepN, PepC y PepG: aminopeptidasas generales; PepL: leucil aminopeptidasa; PepA: glutamil aminopeptidasa; PepX: X-prolil-dipeptidil aminopeptidasa; PepR: prolinasa; PepQ: prolidasa; PepV: dipeptidasa; y PepT: tripeptidasa. Adaptado (McSweeney and Sousa, 2000)

Las concentraciones de aminoácidos generalmente aumentan durante la maduración, con la excepción de Arg, cuya concentración disminuye al final del proceso de maduración (Puchades, Lemieux and Simard, 1989). El nivel de péptidos y FAA solubles del queso en ácido fosfotungstácico al 5% (PTA) se ha considerado un indicador confiable de la tasa de desarrollo del sabor (Ardö and Pettersson, 1988).

Los péptidos medianos y pequeños, así como los FAA contribuyen al sabor de fondo de la mayoría de las variedades de queso (Urbach, 1995) y algunos péptidos individuales denotan sabores como "amargo", "de nuez", "dulce" y "brothy". El descriptor de sabor y los valores de

umbral de algunos aminoácidos se resumen en la Tabla 3. Fox and Wallace (1997) han sugerido que el sabor y la concentración de FAA no pueden correlacionarse, ya que diferentes quesos (por ejemplo, Cheddar, Gouda y Edam) tienen sabores muy diferentes, aunque la concentración y las proporciones relativas de FAA son generalmente similares. Estos resultados muestran que la producción de aminoácidos no es el paso limitante en la generación de sabores de origen proteico en la maduración del queso, y se ha sugerido que quizás la modificación enzimática o química de los aminoácidos es el factor crítico (Fox and McSweeney, 1996).

Tabla 3. Descriptor de sabor y valores de umbral para aminoácidos (adaptada de Cadwallader and Singh, 2009)

Aminoácido	Umbral de sabor (mg/100 mL)	Gusto básico				
		Dulce	Salado	Ácido	Amargo	Umami
Gly	130	***				
Ser	150	***				***
Thr	260	***			***	
His	20		***			
Asp	3		***			***
Glu	5		***			***
Arg	50				***	
Ala	60	***				
Met	30				***	
Lys	50	***			***	
Val	40				***	
Leu	190				***	
Pro	300	***			***	
Phe	90				***	
Tyr	-				***	
Ile	90				***	
Trp	90				***	

^aLos aminoácidos se consideran percibidos si su concentración en el queso es mayor que su concentración umbral.

*** Se percibe el gusto básico indicado

La amargura en el queso se debe principalmente a péptidos hidrófobos y generalmente se considera un defecto, aunque las notas amargas pueden contribuir al sabor deseable del queso maduro (Cadwallader and Singh, 2009). Ciertas secuencias en las caseínas son particularmente hidrófobas y, cuando se cortan con proteinasas, pueden provocar amargor. La acción del agente coagulante se ha implicado en la formación de péptidos amargos en el queso y, por lo tanto, los factores que afectan la retención y la actividad del cuajo en la cuajada pueden influir en el desarrollo del amargor.

El tipo de BAL y cuajo se considera importante en el desarrollo de la amargura; el papel principal del cuajo en el desarrollo del amargor puede ser la producción de péptidos largos que posteriormente son degradados a pequeños péptidos amargos por las proteinasas de las BAL. Los péptidos amargos también pueden ser producidos directamente por las BAL. Estos péptidos se acumulan en el queso debido a la ausencia de proteinasas o peptidasas de la BAL,

o debido a la incapacidad ésta para hidrolizarlos a péptidos no amargos que de otro modo serían demasiado grandes para ser percibidos como amargos (Lemieux and Simard, 1991).

Además de los péptidos, varios otros compuestos pueden contribuir al amargor del queso, incluidos aminoácidos, aminas, amidas, amidas sustituidas, cetonas de cadena larga y algunos monoglicéridos (Adda, Gripon and Vassal, 1982). El origen de los sabores no deseados en queso Cheddar se ha atribuido a una serie de compuestos generados a partir de la degradación de Strecker (Dunn and Lindsay, 1985), incluidos fenilacetaldehído, feniletanol, 3-metilbutanol, 2-metilpropanol, fenol y p-cresol.

1.5.4. Catabolismo de aminoácidos

El catabolismo de FAA puede dar lugar a una serie de compuestos, incluidos amoníaco, aminas, aldehídos, fenoles, indol y alcoholes, todos los cuales pueden contribuir al sabor del queso. El catabolismo de la FAA probablemente juega algún papel en el desarrollo del sabor en todas las variedades, pero es particularmente significativo en los quesos madurados con moho (Fox, Singh and McSweeney, 1995). La primera etapa en el catabolismo de aminoácidos implica la descarboxilación, la desaminación, la transaminación, la desulfuración o quizás la hidrólisis de las cadenas laterales de aminoácidos. La segunda etapa implica la conversión de los compuestos resultantes (aminas y α -cetoácidos), así como los aminoácidos mismos, en aldehídos, principalmente por la acción de las deaminasas sobre las aminas. La etapa final del catabolismo de aminoácidos es la reducción de los aldehídos a alcoholes, o su oxidación a ácidos. Los aminoácidos que contienen azufre pueden experimentar una conversión extensa, lo que lleva a la formación de una serie de compuestos, incluidos el metanotiol y otros derivados de azufre. Las vías generales para el catabolismo de FAA se resumen en la Figura 7.

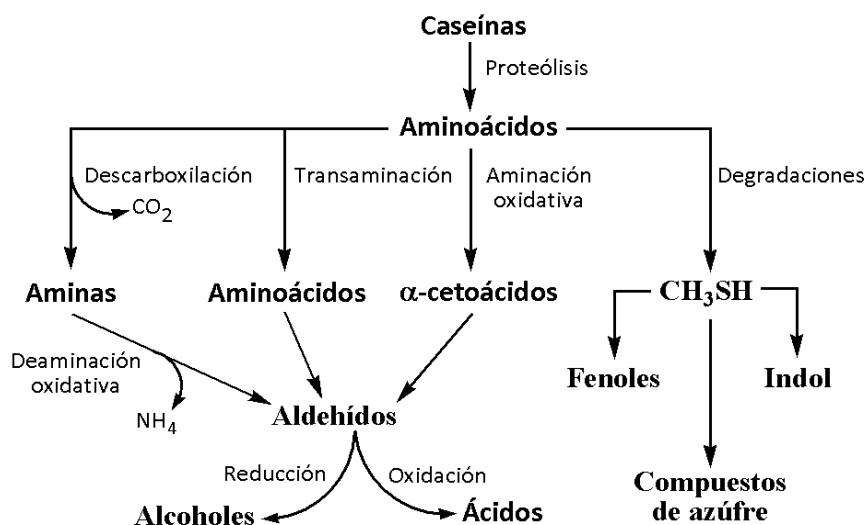


Figura 7. Vías generales para el catabolismo de aminoácidos libres (FAA). Adaptado (McSweeney and Sousa, 2000)

1.6. Características sensoriales del queso

Las propiedades sensoriales se refieren a los atributos que posee un alimento y son perceptibles por los órganos de los sentidos. Éstos se conocen a través de la evaluación sensorial que es la disciplina encargada de evocar, medir, analizar e interpretar las sensaciones producidas por dichas propiedades (Pedrero, 1989; Ureña, 1999; Lawless and Heymann, 2010; Stone *et al.*, 2012). Este análisis requiere el uso de seres humanos como instrumentos de medición dado que en las pruebas sensoriales un sujeto debe percibir, reconocer, nombrar y, en su caso, cualificar o cuantificar los atributos del alimento en una integración de su sistema sensorial. Las propiedades de los quesos pueden evaluarse con técnicas instrumentales y fisicoquímicas, y relacionarlas luego con los atributos sensoriales. Se utiliza el TPA (Análisis de perfil de textura) para medir parámetros de textura. A través de la micro extracción en fase sólida (SPME) acoplada a cromatografía de gases-masas (GC-MS) se analizan los componentes volátiles responsables del aroma (Marsili, 2007). Los parámetros de textura y los compuestos volátiles identificados pueden correlacionarse estadísticamente con los atributos sensoriales. Las técnicas fisicoquímicas y microbiológicas permiten conocer la composición química y la microbiota presente y relacionar su influencia en las características sensoriales de los quesos. La precisión y reproductibilidad de los métodos instrumentales son mayores que aquellas de un jurado de degustación. El valor de un método instrumental es útil para establecer una correlación con la evaluación objetiva de los jueces (Zamora, 2007), pero no sustituye a la evaluación sensorial (Ureña, 1999; Lawless and Heymann, 2010; Stone *et al.*, 2012).

1.6.1. Perfil sensorial en quesos

La evaluación sensorial aplicada a la caracterización cuantitativa de los atributos de los productos se conoce como análisis descriptivo o perfil sensorial. Los análisis descriptivos involucran la discriminación y la descripción de componentes sensoriales cuantitativos y cualitativos (López, 2011; Torricella *et al.*, 2007).

En un queso, el número de atributos sensoriales, definidos a través de un análisis descriptivo, es elevado porque es un alimento complejo. Globalmente, los caracteres pueden dividirse en tres grupos: de apariencia, de consistencia o textura y olfato-gustativos. El queso quedará definido y caracterizado después de describir su aspecto exterior e interior, su textura, complejidad aromática y gustos básicos, siguiendo técnicas definidas. La apreciación de las características (atributos) sensoriales propios del queso siguen un orden según la estimulación de los sentidos en los diferentes momentos de la degustación. Habitualmente, es la vista la que apreciará en primer lugar los atributos que definen la apariencia, tanto externa como interna del queso; ésta advierte entre otras, el color y las características de superficie. Posteriormente el sentido del tacto (manual) reconoce características de textura. El sentido del olfato denotará las primeras sensaciones aromáticas (ortonasales). El resto de las propiedades de textura, tanto mecánicas como geométricas y de superficie se perciben en la boca con la lengua, los dientes, el paladar e incluso los carrillos. En la boca y junto con el sentido

del olfato (retronasal) se perciben otro grupo de caracteres aromáticos, se aprecian los atributos de gustos básicos y sensaciones trigeminales, pertenecientes al conjunto de caracteres olfato-gustativos (Chamorro y Losada, 2002; Klark *et al.*, 2009).

En los países con larga tradición quesera, las especificaciones sensoriales son esenciales en la caracterización y tipificación de un queso, especialmente si éste cuenta con denominación de origen. De ahí que la definición del perfil sensorial de un queso determinado es indispensable como parte de su caracterización. En este aspecto, el análisis descriptivo se aplica de forma sistemática.

Pagliarini *et al.* (1997) establecieron los perfiles sensoriales de tres quesos Mozzarella elaborados con leche entera y descremada de vaca y con leche entera de búfala, por un panel entrenado formado por 10 evaluadores. La diferencia más notable en composición fue el contenido de grasa. Se definieron 20 atributos: blanco, translúcido, fibroso, pasta lisa, aroma lácteo, mantequilla, yogurt, ácido, amargo, dulce, salado, crema, elástico, cohesivo, gomoso, jugoso, resbaladizo, desmenuzable. Se demostró que los tres quesos son sensorialmente bien diferenciados.

Larráyo *et al.* (2002) desarrollaron un perfil sensorial de sabor y aroma para queso Roncal hecho a base de leche cruda de oveja. Dicho perfil se obtuvo con muestras de queso Roncal elaboradas en tres momentos diferentes del año (invierno, primavera y verano) y madurados durante cuatro u ocho meses. Los quesos fueron recolectados de establecimientos artesanales e industriales. Concluyeron que los atributos sensoriales para el olor y el sabor del queso Roncal son el resultado de la interacción de los matices de olor lácteo, torrefacto, animal y afrutado con otros matices como ácido acético y ácido butírico. Los descriptores clave en la definición del olor y el sabor fueron: crema, caldo de carne, oliva, caramelo, caramelo líquido, tostado, ácido acético, sudor, leche acidificada, amoníaco, cuero, paja y lana.

Scintu *et al.* (2010) aplicaron la técnica de perfil sensorial en la evaluación del queso Fiore Sardo, elaborado con leche de oveja. El análisis sensorial descriptivo se empleó para encontrar los atributos sensoriales que caracterizaban a este queso en dos tiempos de maduración (105 y 180 días). Doce panelistas expertos identificaron y evaluaron 10 atributos sensoriales: ahumado y cuajo para el olor; amargo y salado para el sabor, picante para las sensaciones trigeminales; ahumado y cuajo para el aroma; harinoso, granulado y friable para la textura. Los quesos madurados por 105 días difirieron significativamente para el olor ahumado, salado y granulado, mientras que los quesos madurados por 180 días fueron significativamente diferentes para el olor ahumado, picante y friable. La comparación entre los quesos de 105 y 180 días no mostró diferencias significativas.

A menudo es necesario relacionar los datos obtenidos por técnicas analíticas de evaluación sensorial con datos obtenidos mediante pruebas afectivas realizadas a los quesos. Esto

permite tener una explicación de las preferencias del consumidor a partir de la comprensión del desarrollo y las variaciones en el sabor, aroma y textura del queso que se producen durante el proceso de elaboración y/o durante el tiempo de almacenamiento o maduración. Es relación a lo anterior, Caspia *et al.* (2006) establecieron una relación entre la aceptabilidad de queso Cheddar mediante un mapeo externo de preferencia y los atributos obtenidos en un análisis sensorial descriptivo. El queso Cheddar fue evaluado con 7, 9 y 12 meses de maduración. Reportaron que el panel de evaluadores expertos describió el aroma como cremoso, cocido y mantequilla, mientras que el mapeo externo reveló seis grupos de consumidores con diferentes preferencias, pero todos aceptaron mejor los quesos Cheddar con menor tiempo de maduración. Childs and Drake (2009) evaluaron cuantitativamente la percepción del consumidor respecto a quesos Cheddar y Mozzarella reducidos en grasa. Los factores investigados fueron el contenido de grasa, sabor, textura y el precio del queso. Los resultados del estudio sugieren que tanto el queso Cheddar como el Mozzarella resultan más atractivos cuanto más grasa tengan. Además, reportaron que la mayoría de los consumidores no están dispuestos a sacrificar el sabor o la textura por la reducción de grasa en quesos.

Franczak *et al.* (2015) realizaron un análisis sobre los diseños experimentales que mejor se adecuan a la realización de pruebas afectivas que buscan conocer los gustos y disgustos de los consumidores. Plantean la ventaja de utilizar un Sensory Informed Design (SID, por sus siglas en inglés) sobre los diseños de bloques completos al azar y el diseño de bloques incompletos balanceados. A través de ejemplos de aplicación dan detalles sobre la formulación del SID, los datos que surgen de éste, así como las alternativas de análisis estadístico de los datos utilizando un enfoque de agrupación e imputación simultánea. Este diseño experimental puede representar una opción adecuada para evaluar un gran número de muestras de queso con un grupo numeroso de consumidores.

Los reportes sobre perfil sensorial en quesos frescos son limitados, debido seguramente a que tienen una vida de anaquel corta y presentan cambios drásticos en los atributos sensoriales en poco tiempo. En quesos frescos como el Oaxaca las características sensoriales se adquieren durante el proceso, principalmente mediante la participación de la microbiota presente o BAL adicionadas (*Lactococcus*, *Streptococcus* o *Lactobacillus*).

En relación a los atributos sensoriales de queso Oaxaca, Villanueva *et al.* (2012) definieron un perfil de flavor y textura en queso Oaxaca artesanal. Reportaron 14 descriptores para el flavor: cremoso, grasoso, mantequilla, fermentado, ahumado, leche quemada, caramelizada, acuoso, mohoso, vaca, dulce, ácido, salado y amargo; mientras que para la textura reportaron: dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad. Concluyeron que el origen de la leche influye considerablemente en la definición del flavor, explicando el 51,9% de la varianza. Además, reportaron que la textura y el flavor, como variables multivariadas, son linealmente dependientes y también muestran una alta correlación (0.966).

El perfil sensorial de queso Oaxaca de referencia (Sandoval *et al.*, 2016), se desarrolló con un panel de jueces entrenados a partir de tres quesos de referencia que fueron obtenidos mediante un proceso estandarizado, empleando un cultivo láctico mesofílico (mezcla de *Lc. lactis ssp lactis* y *Lc. lactis ssp cremoris*), uno termofílico (*Streptococcus salivarius ssp thermophilus*) y leche cruda. Se generó un protocolo de evaluación integrado por cinco fases: visual, táctil, olfativa, bucal y auditiva. Con la aplicación de este protocolo se identificaron 45 atributos representativos de este queso. Los atributos que describen la fase visual (la apariencia) y que se encontraron en las tres muestras de queso fueron amarillo pálido, brillante, húmedo, ceroso, elástico y estriado, siendo el queso elaborado con leche cruda el que presentó mayor intensidad en estos atributos. En la fase táctil los quesos fueron descritos con los atributos: rugoso, húmedo, grasoso, elástico y deshebrable; el queso que presentó la mayor intensidad en estos atributos fue el obtenido con cultivo mesofílico. En la fase olfativa, el panel describió los siguientes atributos aromáticos: láctico acidificado, láctico cocido, butírico, caramélico ligero, diacetilo, lactónico, almendra y vaca. En la fase bucal, el queso elaborado con cultivo termofílico se percibió como el más ácido; el de leche cruda como el más salado y dulce. Respecto a los atributos que describen la textura bucal fueron identificados como más representativos los siguientes: firme, masticable, gomoso, viscoso, adherente, fibroso, grasiento; y rechinante para la fase auditiva. La cromatografía de gases (SPME-CG-MS) reveló la presencia de ácido acético, ácido propanoico, ácido 2-metilpropanoico, ácido butanoico propiléster, 2-propanoico, 2-butanona, 3-hidroxi-2 butanona, 2-heptanona, diacetilo y 3-metil butanal como componentes volátiles responsables del aroma en los tres quesos, que pueden ser relacionados con los atributos descritos por el panel. Así mismo, el análisis de color y los resultados del TPA tuvieron una correlación positiva con los datos sensoriales. Por ejemplo, el porcentaje de grasa presentó un índice de correlación de 0.99 con el color amarillo; de 0.70 con el atributo ceroso y 0.74 con lo brillante. Por su parte, la firmeza medida mediante TPA tuvo un índice de correlación de 0.98 con el atributo masticable y 0.93 con gomoso y la relación de la gomosidad instrumental fue de 0.99 y 0.90 con masticable y rechinante respectivamente.

Finalmente, en una evaluación sensorial afectiva, los consumidores prefirieron el queso Oaxaca artesanal con respecto al queso Oaxaca industrial (Jiménez, resultados no publicados), indicando como razones de su preferencia mejores características de textura, más deshebrable, sabor característico de queso Oaxaca y mejor color.

1.7. Características sensoriales y propiedades físicas de los quesos de pasta hilada no madurados

Por propiedades funcionales de los quesos se entienden aquellas que les confieren aptitudes beneficiosas para su almacenamiento y conservación, presentación y preparación culinaria. Se ha descrito un número elevado de propiedades funcionales en los quesos cuya importancia depende en cierta medida del tipo de queso considerado.

En primer lugar, se han de citar las propiedades funcionales que tienen los quesos antes de su eventual tratamiento térmico (fundido). Unas están relacionadas con la textura: facilidad para el rebanado y/o desmenuzado, dureza, mantenimiento de la forma original, etc. Otras son relativas al color del queso.

En segundo lugar, en los quesos frescos o poco madurados, generalmente consumidos poco después de su elaboración, con una pasta acidificada, pH igual o inferior a 5.4, como es el caso de la mayoría de los quesos mexicanos, entre ellos el Oaxaca, la aptitud para el fundido es una de las características más relevantes para la preparación culinaria. El fundido viene definido a su vez por diversos parámetros como son: la extensión durante el fundido, temperatura de fundido, tiempo de fundido, el estiramiento del queso fundido, la retención de grasa en el fundido o los cambios de color.

La composición del queso es la que determina las propiedades funcionales (Fox *et al.*, 2016). Además, se sabe que las propiedades funcionales de los quesos se ven afectadas por las condiciones de elaboración y su maduración. En la bibliografía se han encontrado numerosos estudios sobre las propiedades funcionales del queso Mozzarella (Yun *et al.* 1995; Fife *et al.* 1996; Guinee *et al.* 2000; Joshi *et al.* 2004; Sheehan and Guinee, 2004; Kindstedt, 2004; Sheehan *et al.* 2005; Zisu and Shah 2005). Sin embargo, hasta el momento, los estudios relacionados con las propiedades funcionales del queso Oaxaca son escasos.

1.7.1. Textura

La textura es muy importante en la preferencia y aceptación de los alimentos, siendo reconocida como uno de los principales parámetros de la calidad (Bourne, 1973). Los atributos sensoriales de textura de los quesos son varios y se dividen en características mecánicas, geométricas y otras (Fox *et al.*, 2016).

La textura en el queso es el resultado de su estructura, adquirida durante el proceso de elaboración y modificada durante la maduración. El queso Mozzarella, como representante de los quesos de pasta hilada no madurado, en comparación con otros quesos, presenta una dureza relativamente baja, y alto valor de elasticidad, cohesividad, adhesividad, masticabilidad y gomosidad (Tunick *et al.*, 1991). El queso Oaxaca, por su parte, comparado con otros quesos mexicanos, también presenta una baja dureza y elevada cohesividad, pero su elasticidad y adhesividad son bajas (Caro *et al.*, 2014).

En los quesos de pasta hilada no madurados, en general, y en el queso Oaxaca, en particular, se valora su facilidad de deshebrado como atributo de textura. Esta propiedad se puede definir como la aptitud de un queso para ser desmenuzado. Esta operación se dificulta tanto si el queso es muy blando y pastoso como si es duro y quebradizo. También es importante para el

queso Oaxaca en relación a su textura, el mantenimiento de la estructura fibrosa característica y de la integridad de la correa y la firmeza del queso a lo largo de la conservación.

En los quesos de pasta hilada la operación de estirado trae como consecuencia que la proteína dominante, el fosfoparacaseinato monocálcico, adquiera una microestructura fibrosa. La proteína se alinea en fibras orientadas en la dirección del estirado, con columnas intercaladas embebidas de suero y con grasa emulsificada entre las mismas (McMahon *et al.*, 1993). La aptitud de la cuajada para el estirado e hilado en el proceso de malaxado está principalmente relacionada con el calcio (Lucey y Fox, 1993). Demasiado Ca^+ asociado a la caseína producirá una cuajada dura que se desgarrará y se fracturará durante el hilado, mientras que un contenido muy bajo en Ca^+ producirá una completa pérdida de estructura y elasticidad. La presencia de Ca^+ asociado a la proteína, a su vez, depende del pH. Al descender el pH, el fosfato de calcio coloidal, ligado a la caseína y a la para κ -caseína que forman la “malla” (o red de la cuajada), se vuelve soluble y migra hacia la fase acuosa (suero), dejando la matriz estructural parcialmente desmineralizada (Lucey y Fox, 1993) y muy hidratada. Además del Ca^+ , la textura del queso de pasta hilada puede depender de factores como la temperatura de malaxado: a mayor temperatura, textura más firme (Tunick *et al.*, 1991), o la cantidad de sal (Kindstedt, 1993).

En el queso, la caseína es el componente estructural más importante ya que forma una red que atrapa la grasa y embebe el agua. Las condiciones utilizadas en la elaboración del queso determinan el grado de agregación de la caseína y por lo tanto la formación de estructuras más o menos rígidas y porosas. La grasa y el agua se ubican en el interior de la matriz proteica de caseína y tienen un papel plastificante al disminuir la fricción entre cadenas de proteína (Prentice *et al.*, 1993). De esta forma, la composición mayoritaria del queso determina en gran medida la textura del mismo. Un aumento en el contenido de humedad (manteniéndose constante la cantidad de grasa sobre extracto seco) provoca una textura más blanda (Tunick *et al.*, 1991). La cantidad de proteína aumenta la dureza y la de grasa la disminuye; en este sentido, Sundar y Upadhyay (1990) proponen el coeficiente proteína/grasa como indicador de dureza del queso. También se ha comprobado que en el queso Mozzarella para pizza, un contenido en grasa superior al 38% produce un queso blando y difícil de desmenuzarse (Kindstedt, 1993). Igualmente, se ha encontrado una relación inversa entre el contenido de grasa con elasticidad y la cohesividad (Tunick *et al.*, 1991). Por el contrario, una disminución del contenido de grasa (con el fin de elaborar quesos con bajo contenido en grasa) genera normalmente cambios no deseados en la textura, en particular genera quesos duros y gomosos, que pueden empobrecer su calidad (McMahon *et al.*, 1993). El contenido en minerales también está relacionado con la dureza, a más cantidad de Ca^+ , que normalmente viene dado por pH más elevados, mayor es la dureza (Kindstedt, 1993).

La cohesividad del queso, además de depender de la grasa del queso, depende de factores como la humedad sobre materia seca desengrasada, minerales, proteínas y pH (Sundar y

Upadhyay, 1990). Los quesos con bajo contenido en grasa y alto en proteína son más cohesivos y un pH bajo en el malaxado disminuye la cohesividad. La elasticidad está relacionada con el contenido en proteínas y su grado de desmineralización, más proteínas y más minerales hacen el queso más elástico (McMahon *et al.*, 1993).

Por otra parte, la proteólisis en el queso durante su maduración o almacenamiento juega un papel fundamental en su textura. Dentro de los métodos instrumentales más utilizados para determinar la textura de los quesos se encuentra el análisis de perfil de textura, en el cual se determinan propiedades primarias como la dureza, cohesividad, elasticidad y adhesividad y otras secundarias como la fracturabilidad, masticabilidad y gomosidad (Hennelly, 2006). En el queso Oaxaca es complicado aplicar esta técnica debido a la forma del queso y a su estructura fibrosa, ya que las correas de pequeño diámetro no permiten obtener cubos suficientemente homogéneos que permitan reducir la variabilidad en las mediciones.

1.7.2. Color

El color de los quesos crudos está influido por el tipo de leche empleada, por la técnica de elaboración y por el tiempo de maduración. El agente colorante de la leche responsable del color en los quesos es el caroteno, un pigmento amarillo con ligeros tintes naranjas, que se encuentra contenido en la grasa de la leche (Fox *et al.*, 2016). Como dicha grasa pasa en su mayor parte al queso, se produce una concentración de este color después de la coagulación. El color del queso durante el fundido se ve afectado tanto por fenómenos químicos, como la reacción de Maillard, como por fenómenos físicos como la pérdida de humedad o la exudación de grasa (Richoux *et al.*, 2008). Cuando el queso Mozzarella, o el queso para fundir en general, se hornea, la superficie del queso pierde luminosidad y adquiere una tonalidad marrón que si es excesiva puede llegar a ser un defecto (Imm *et al.*, 2003; Wang y Sun, 2003). El pardeamiento ocurre cuando la concentración de azúcares es elevada. En concreto, se ha mencionado que cuando hay una acumulación de galactosa en el queso, debido al predominio de microorganismos que no utilicen dicho azúcar, se produce pardeamiento considerable al fundir el queso con calor. Por el contrario, una baja cantidad en azúcares reductores y/o de aminoácidos, péptidos u otras moléculas con grupos amino libre, hacen que el queso no presente pardeamiento. Existen otros factores de composición con efecto sobre el pardeamiento como la sal, que en concentraciones superiores al 4% favorecen el pardeamiento (McMahon *et al.*, 1993). Por otra parte, la exudación de grasa durante el fundido aumenta el brillo y empeora la apariencia y el color de los quesos fundidos. En quesos con alto contenido en grasa sobre materia seca aumenta su derretibilidad y hay una disminución en la retención de grasa durante el fundido (Tunick *et al.*, 1991). En el queso Mozzarella llega a ser muy exagerada cuando el porcentaje de grasa sobre extracto seco excede el 37% (Kindstedt, 1993).

El color de los quesos puede medirse subjetivamente por comparación con Tablas de color (Pantone o Munsell) y objetivamente usando un aparato medidor de color (espectrofotómetro

o colorímetro). McMahon *et al.* (1993) realizaron la determinación objetiva del color, a través de la espectrofotometría de reflectancia, ya que esta técnica instrumental es uno de los métodos más utilizados debido a su estrecha correlación con la percepción visual del ojo humano. Esta metodología permite evaluar los cambios de color a lo largo del tiempo, sobre una misma muestra y sin necesidad de su destrucción; por lo que constituye una técnica rápida y fácil de realizar.

1.7.3. Fundido

El fundido se puede definir como la capacidad del queso, deshebrado o no, para fluir (expandirse) y fusionarse, formando una masa derretida y estirable (Caro *et al.*, 1999). El fundido es una de las propiedades funcionales más importantes de los quesos que se van a utilizar como ingredientes para la preparación de alimentos cocinados o calentados.

La composición del queso influye sobre sus características de fundido. A medida que el contenido en Ca^{+} y P^{-} descienden en la cuajada (debido generalmente al descenso del pH durante la acidificación de la misma) el queso funde más intensamente (Kindsedt, 1993). La propiedad de estirado del queso fundido (capacidad de formar tiras fibrosas, lisas y resistentes que se alargan sin romperse al aplicar una tensión de tracción al queso) también está relacionada con la concentración de Ca^{+} y P^{-} y, consecuentemente, con el pH de la cuajada y con la integridad de la caseína (Kindsedt, 1993). El pH alto de la cuajada, además de empeorar el fundido del queso y el estirado, provoca una mayor pérdida de grasa. El contenido en sal influye negativamente sobre el fundido, en la revisión de Kindsedt se menciona que un queso Mozzarella con un 1,8% de sal funde mucho peor que otro con el 1,0%. Sin embargo, una mayor cantidad de sal parece prevenir el defecto de separación de grasa en el queso, pues aumenta la capacidad emulsificante de las caseínas por mecanismos relacionados con el intercambio iónico.

Se han descrito varias formas de evaluar la extensión del queso durante el fundido, que consisten básicamente en dos tipos de experimentos. En uno de ellos se coloca un cilindro de queso sobre una base plana y se calienta a una temperatura y tiempo establecidos, determinándose finalmente el porcentaje de extensión del queso fundido sobre el área inicial del cilindro de queso (Guinee *et al.*, 2000; Richoux *et al.*, 2001; Wang y Sun, 2001). El otro, consiste en meter un cilindro de queso en un tubo, colocarlo horizontalmente en un horno y calentar a temperaturas y tiempos diversos determinando la distancia de avance del queso en el tubo (McMahon *et al.*, 1993; Hennelly *et al.*, 2006). El tiempo que tardan los trozos de queso en mostrar una consistencia semilíquida es otra forma de medir la propiedad funcional del fundido (Guinee *et al.*, 2000). Estos últimos autores han desarrollado un método para su determinación que consiste en colocar un cilindro de queso desmenuzado sobre una base plana en un horno a una temperatura determinada y medir el tiempo que transcurre hasta fundirse el queso, es decir, hasta que no se puedan diferenciar los trozos visibles.

El estirado del queso fundido usualmente se cuantifica manualmente usando un tenedor y levantando el queso fundido, debiéndose encontrar al menos un estiramiento de 7,5 cm para poder decir que el queso “estira” bien (USDA, 1980). Por su parte, McMahon *et al.* (1993) relacionan la viscosidad aparente del queso fundido a 60 °C, determinada mediante un viscosímetro de Brookfield con un vástago en forma de T, con el estirado, concluyendo que una alta resistencia al giro implica un gran estirado.

Por otra parte, la pérdida de grasa durante el fundido se puede determinar colocando un cilindro de queso sobre un papel, procediendo a su fundido y midiendo la extensión del círculo de grasa que se forma en el papel (Richoux *et al.*, 2001). La retención de grasa también se puede determinar en el queso mediante homogeneización en un medio acuoso, calentamiento y medida la cantidad de grasa liberada mediante centrifugación (McMahon *et al.*, 1993).

1.7.4. Sabor

Los sabores principales de los quesos son el salado y el ácido. El salado por la adición de sal y el ácido por la formación de ácido láctico. Además, algunos quesos pueden llevar azúcar por lo que se detecta el sabor dulce. También en los quesos se puede detectar el sabor amargo, que viene dado por la presencia de péptidos originados principalmente a partir de las regiones hidrofóbicas de las proteínas mediante procesos proteolíticos. El análisis de los compuestos sápidos se lleva a cabo por diversas técnicas instrumentales como la cromatografía, electroforesis y métodos enzimáticos (Fox *et al.*, 2016).

Respecto a los componentes aromáticos, alguno de los atributos más utilizados para describir el aroma de los quesos son: “crema”, “yogur”, “agrio”, “fruta”, “herbáceo”, “amoniaca”, “establo”, “leche”, “moho”, “nuez”, etc. (Fox *et al.*, 2016; Retiveau *et al.*, 2005). Los numerosos compuestos volátiles implicados en el aroma de los quesos se detectan y cuantifican mediante cromatografía de gases, normalmente con un detector de espectrometría de masas. Estos compuestos pertenecen a las familias de los alcoholes, ácidos, compuestos nitrogenados, azufrados, cetonas y aldehídos, ésteres e incluso terpenos (Fox *et al.*, 2016) y proceden de las materias primas, de las reacciones de proteólisis y lipólisis enzimáticas (catalizadas por enzimas endógenas o microbianas), de otras reacciones bioquímicas mediadas por bacterias, de la reacción de Maillard y de la de Strecker, así como de la oxidación de las grasas (Fox y Wallace, 1997). Cuando hay una descompensación en los volátiles de los quesos el sabor del queso puede desviarse de lo normal, adquiriendo matices no deseados que disminuyen su calidad (olores rancios, afrutados, químicos, etc.).

JUSTIFICACIÓN

La caracterización de un queso incluye básicamente la definición de sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas, así como la descripción de sus atributos sensoriales. En la caracterización, pueden incorporarse otros elementos como las propiedades funcionales, de textura, las especificaciones del procesamiento, entre otras. La norma para queso Oaxaca establece las especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, pero no señala las características sensoriales que este queso debe poseer. De todas las características de un queso, las propiedades sensoriales son las únicas que el consumidor puede percibir; por ello estas propiedades cobran importancia puesto que de estas depende (casi exclusivamente) la aceptabilidad del queso a nivel comercial.

Se cuenta con un perfil sensorial para queso Oaxaca definido a partir de quesos obtenidos mediante procesos controlados y evaluados al día siguiente de su obtención. Sin embargo, durante su vida útil (20 días) estos atributos sensoriales cambian rápidamente puesto que se trata de un queso fresco. Por tanto, una evaluación sensorial durante el almacenamiento de queso Oaxaca obtenido mediante procesos controlados permitirá conocer la evolución de los atributos sensoriales y definir en qué etapa se perciben atributos no deseables.

Por otro lado, en nuestro país existe una amplia diversidad de quesos Oaxaca artesanales e industriales cuya composición fisicoquímica y características microbiológicas son muy heterogéneas y sin duda también lo son sus atributos sensoriales. Una evaluación sensorial de estos quesos permitirá ubicar sus atributos sensoriales dentro del perfil sensorial definido durante el almacenamiento (del queso Oaxaca experimental) y ampliar este perfil de tal manera que represente la variedad de queso Oaxaca manufacturado en México.

La caracterización global de un queso se requiere para definir su identidad, en particular si se trata de un producto originario de un territorio geográfico específico. Tal es el caso del queso Oaxaca, que es un derivado lácteo de origen mexicano y del cual se conocen sus características fisicoquímicas y microbiológicas, pero poco sus atributos sensoriales. En la norma correspondiente deben incorporarse las especificaciones sensoriales; así podría distinguirse un queso Oaxaca “tradicional” de otro elaborado industrialmente con sucedáneos de leche.

Los resultados generados de esta investigación permitirán ampliar el conocimiento existente sobre este queso mexicano, especialmente en relación a las características sensoriales, hasta el momento poco estudiadas. Además, un perfil sensorial de queso Oaxaca será de utilidad desde el punto de vista de caracterización del producto para tipificar los atributos sensoriales y evaluar su impacto en la calidad. También puede tener aplicación en el aspecto mercadotécnico para conocer la preferencia y aceptación por los consumidores o fijar costos; en cuanto a la manufactura puede ser útil para modificar procesos y establecer fecha de

consumo preferente; o bien en el ámbito normativo serviría para sugerir una gama de calidades de queso Oaxaca en beneficio de los productores y consumidores.

HIPÓTESIS

- Durante el almacenamiento en refrigeración del queso Oaxaca se producen cambios en las características físicas, químicas y sensoriales, atribuibles a diversos factores, entre los cuales la microbiota y enzimas presentes juegan un papel predominante. En quesos Oaxaca obtenidos en condiciones controladas estos cambios pueden ser monitoreados a través de análisis fisicoquímicos, instrumentales y sensoriales, de tal manera que se podrá establecer una correlación entre resultados analíticos y sensoriales que permitan conocer los cambios en el perfil sensorial a través del tiempo y explicar las causas de aceptación o rechazo de un queso.
- Las técnicas fisicoquímicas e instrumentales generan datos objetivos respecto a las características de un alimento y la evaluación sensorial cuantifica e interpreta las percepciones generadas por dichas características. Al aplicar análisis fisicoquímicos y sensoriales para evaluar quesos Oaxaca (experimentales, artesanales e industriales), existirá una correlación entre los atributos sensoriales, medidos por un panel de jueces y las características físicas y químicas medidas con técnicas fisicoquímicas e instrumentales.
- El queso Oaxaca elaborado en México, ya sea artesanal o industrial, posee al menos el 60% de atributos sensoriales comunes que lo caracterizan. Estos atributos comunes permitirán establecer un perfil sensorial propio de este queso de origen mexicano.

OBJETIVOS

General

Definir un perfil sensorial de queso Oaxaca comercial (artesanal e industrial) tomando como base los atributos sensoriales identificados durante la vida útil de queso Oaxaca experimental, así como explicar la influencia de las características fisicoquímicas (composición química, textura, color, compuestos volátiles) y microbiológicas (población de bacterias lácticas, coliformes) en las características sensoriales de este queso.

Particulares

- Evaluar la microbiota (bacterias lácticas: *Streptococcus* y *Lactobacillus*, bacterias coliformes totales y fecales, mesófilos, *Staphylococcus* y *E. coli*) presente en quesos Oaxaca experimentales (elaborados con cultivos de bacterias lácticas mesofílicas, termofílicas y leche acidificada naturalmente), así como en quesos artesanales e

industriales para explicar la contribución de la microbiota en los atributos sensoriales de los quesos.

- Cuantificar mediante la técnica SPME acoplada a GC-MS los compuestos orgánicos volátiles (VOC's) responsables de aroma en los quesos Oaxaca experimentales para evaluar los cambios de concentración durante el almacenamiento, así como en los quesos artesanales e industriales para conocer su impacto en los atributos aromáticos.
- Evaluar los cambios fisicoquímicos (pH, proteólisis) e instrumentales (TPA, color) durante el almacenamiento de quesos Oaxaca experimentales; así como la evaluación de pH, TPA y color en quesos artesanales e industriales.
- Evaluar los cambios en los atributos sensoriales de los quesos Oaxaca experimentales durante el almacenamiento para conocer su evolución y correlacionarlos con los parámetros fisicoquímicos e instrumentales correspondientes.
- Evaluar analíticamente los atributos sensoriales de quesos Oaxaca comerciales (artesanales e industriales) para relacionarlos con aquellos del perfil sensorial de quesos experimentales.
- Evaluar afectivamente los atributos sensoriales de quesos Oaxaca comerciales (artesanales e industriales) para correlacionar la preferencia de los consumidores con las cualidades sensoriales cuantificadas por el grupo de jueces.
- Definir un perfil sensorial del queso Oaxaca que, considerando la variabilidad de la calidad sensorial de este producto lácteo, permita caracterizar sensorialmente cualquier queso Oaxaca elaborado en las diferentes regiones de México.

2. MATERIALES Y MÉTODO

2.1. Obtención de quesos experimentales

Se utilizó leche de vaca proveniente de la posta de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx). Tres tipos de queso fueron manufacturados en las instalaciones de la planta piloto de alimentos de la Facultad de Química, en lotes de 10 Kg, siguiendo un proceso estandarizado (Colín-Cruz *et al.*, 2012): tipo I (QM), con leche pasteurizada y cultivos lácticos mesofílicos (*Lactococcus lactis ssp. lactis* y *Lactococcus lactis ssp. cremoris*) (R-704, Chr Hansen, Horsholm, Denmark); tipo II (QT), con leche pasteurizada y cultivos lácticos termofílicos (*Streptococcus salivarius ssp. termophilus*) (ST1.14, Chr Hansen, Horsholm, Denmark); tipo III (QC), con leche cruda acidificada naturalmente.

En la figura 8 se esquematiza el proceso estandarizado para la obtención de los tres quesos experimentales. Las etapas resaltadas (diferente color) indican la diferencia entre el proceso del queso elaborado con leche cruda y el proceso de los quesos elaborados con leche pasteurizada.

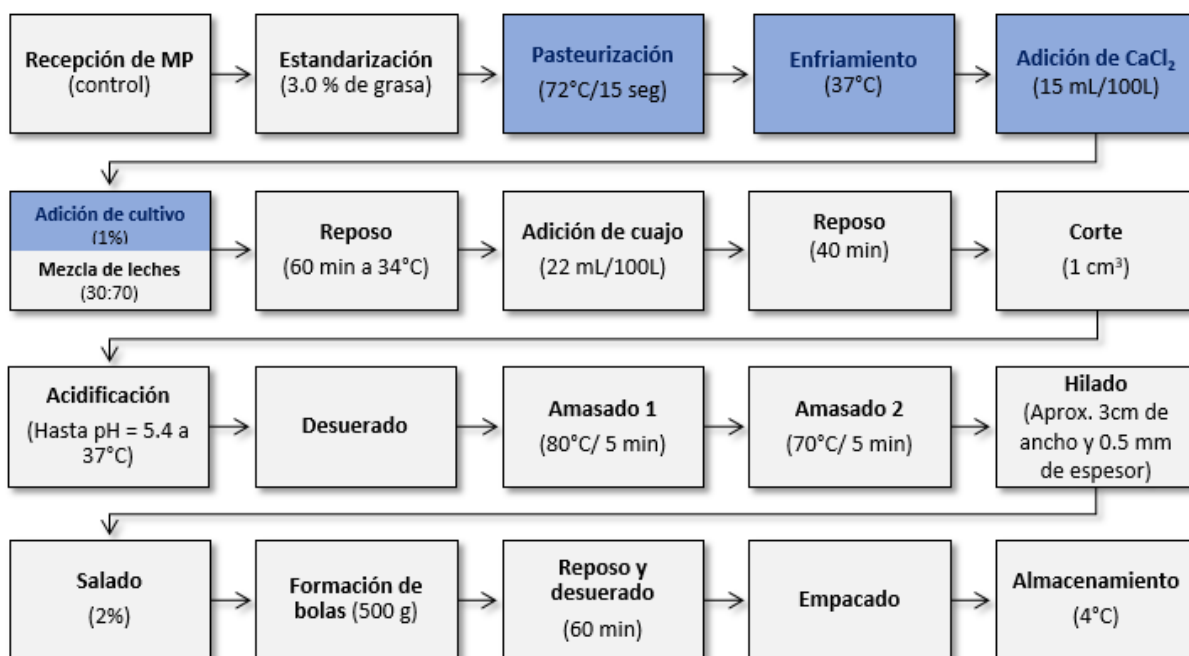


Figura 8. Proceso estandarizado para la elaboración de los quesos Oaxaca experimentales. Las etapas resaltadas en azul se aplican sólo cuando se usa leche pasteurizada en el proceso.

2.2. Análisis realizados en los quesos experimentales

2.2.1. Fisicoquímicos

Se llevaron a cabo mediante las siguientes técnicas:

- a. Grasa por la técnica de Gerber (NMX-F-100-1984).
- b. Proteína por la técnica de Kjeldahl (NMX-F-608-NORMEX-2011).
- c. Humedad en estufa (Richardson, 1985).
- d. pH con potenciómetro (Richardson, 1985).
- e. Contenido de sal por el método de Volhard (Richardson, 1985)
- f. Proteólisis primaria y secundaria (Barbano and Bynum, 1984).

2.2.2. Microbiológicos

Se llevaron a cabo mediante las siguientes técnicas:

- a. Bacterias mesófilas y psicrótrofas (NOM-092-SSA1-1994).
- b. Bacterias coliformes totales (NOM-113-SSA1-1994).
- c. Bacterias coliformes fecales (NOM-112-SSA1-1995).
- d. *Escherichia coli* por NMP (CCAYAC-M-004).
- e. Bacterias lácticas: *Lactobacillus* y *Streptococcus*, por vaciado en placa, utilizando agar MRS y agar M17 respectivamente e incubando a 37°C durante 48 horas (Henri Beerens and François M. Luquet, 1990).
- f. *Staphylococcus aureus* utilizando medio de cultivo Baird Parker (NOM-115-SSA1-1994).

2.2.3. Instrumentales

a. Cuantificación de Compuestos Orgánicos Volátiles (VOC's)

i. Estándares empleados

Las moléculas aromáticas utilizadas como estándares para identificar y calcular la concentración de compuestos orgánicos volátiles, fueron suministradas por una empresa especializada en sabores y fragancias (Mane México Inc.) con purezas de entre 78 y 99 %. Los analitos fueron seleccionados de acuerdo a estudios publicados anteriormente (McSweeney and Sousa, 2000; Cheng, 2010; Evert-Arriagada *et al.*, 2013)

ii. Selección y acondicionamiento de la fibra

Se probaron tres fibras con diferentes fases estacionarias: divinilbenceno/Carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30 μm ; polidimetilsiloxano (PDMS) 100 μm y polidimetilsiloxano /divinilbenceno (PDMS/DVB), 65 μm (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Las fibras se acondicionaron de acuerdo con la especificación del fabricante. El desempeño de las fibras fue evaluado a partir del número, área y altura de picos obtenidos en el cromatograma correspondiente. El mejor desempeño de extracción se obtuvo con la fibra divinilbenceno/

Carboxeno/polidimetilsiloxano 50/30 μm (DVB/CAR/PDMS). Antes de su uso, la fibra se acondicionó en el inyector del cromatógrafo de gases a una temperatura de 220 °C durante 60 minutos.

iii. Optimización de la extracción HS-SPME

Se utilizó un diseño factorial 2^{4-1} en el que se analizaron cuatro factores en dos niveles: temperatura de equilibrio (30 y 50°C), tiempo de equilibrio (10 y 30 min), tiempo de extracción (20 y 40 min) y tiempo de desorción (1 y 5 min). El experimento se llevó a cabo por triplicado. Estos son los parámetros que tienen una mayor influencia en la optimización de la técnica (Delgado *et al.*, 2010; Hayaloglu *et al.*, 2013; Kondyli *et al.*, 2013). La variable de respuesta fue el área de 6 analitos representativos de los componentes del queso (acetaldehído, diacetilo, ácido acético, acetoína, ácido valérico y ácido caprílico). Para preparar la muestra, 20 g de queso rallado (homogenizado por cuarteo) se colocaron en viales de 75 mL que fueron sellados con un septum de silicona de politetrafluoroetileno (Supelco, Bellenfont, PA, USA). Cada vial con la muestra se sometió a la condición correspondiente señalada en el diseño experimental. La extracción se llevó a cabo utilizando la fibra DVB/CAR/PDM exponiéndola en el espacio de cabeza del vial que contenía la muestra, luego se transfirió al inyector del cromatógrafo de gases para realizar la desorción de los analitos extraídos. Los resultados se analizaron mediante un modelo de regresión lineal múltiple y superficie de respuesta, utilizando el software Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc., 2009).

iv. Método cromatográfico

Los compuestos volátiles se analizaron en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer, modelo Autosystem XL) con inyector split off y detector FID. La identidad de los compuestos se corroboró con un cromatógrafo de gases (Varian, CP-3900, 101909) acoplado a un detector selectivo de masas (Varian, Saturn 2100T). En ambos casos se empleó una columna capilar Stabiliwax-MS marca RESTEK de 30 m x 0.25 mm ID y 0.25 μm df, utilizando helio como fase móvil con un flujo de 1 mL/min. El inyector se mantuvo a una temperatura de 230 °C realizando inyecciones manuales. Las muestras fueron desorbidas en el puerto de inyección del cromatógrafo por 5 min. Las condiciones del programa fueron: 35°C mantenida 8 min, y aumento de temperatura con dos rampas, la primera de 15°C/min hasta llegar a 130 °C, mantenida por 10 min; la segunda, de 7 °C/min hasta llegar a 230 °C y mantenida 15 min, con un tiempo total de funcionamiento de 52.5 min. La temperatura de la línea de transferencia del GC/MS fue de 230 °C. El espectrómetro de masas operó con una energía de impacto electrónico de 10mV y una frecuencia de recolección de datos de 1 scan por segundo sobre un intervalo de masas de 10-400 m/z.

v. Identificación de compuestos orgánicos volátiles

Se emplearon como patrones los siguientes compuestos: acetaldehído, diacetilo, 2-3 pentanodiona, metilamilcetona, ácido acético, acetoína, ácido propiónico, furfural, decanal,

butiraldehído, ácido butírico, ácido isovaleriánico, ácido valérico, ácido caprónico, laurato de etilo, ácido caprílico, δ -decalactona, sulfurool, γ -dodecalactona, δ -dodecalactona. Se inyectaron 0.1 μ L de cada uno de los analitos con el inyector en modo split off para obtener su tiempo de retención, así como para comprobar su pureza cromatográfica.

La identificación de los compuestos volátiles en el queso empleando GC se llevó a cabo mediante la comparación de los tiempos de retención de los compuestos de referencia con los tiempos de retención en una muestra de queso adicionada con los analitos exceptuando el furfural, que se adicionó a una muestra de queso por separado, ya que se observó que reaccionaba con los demás analitos. La identificación de compuestos volátiles en el queso empleando GC-MS se realizó comparando sus espectros de masa con espectros de estándares de compuestos volátiles identificados anteriormente, así como por comparación con los espectros de masa contenidos en la librería NIST del equipo. Todas las muestras se analizaron por duplicado con la misma fibra.

vi. Cuantificación de compuestos orgánicos volátiles en el queso

La cuantificación de VOC's se llevó a cabo con base en la técnica de adición de un estándar. Se preparó una disolución patrón mezclando 1 μ L de cada uno de los 21 compuestos de referencia. Diferentes volúmenes de solución patrón (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 μ l) fueron adicionados a 20 g de queso (elaborado con leche cruda) contenidos en un vial de 75 mL. El vial fue colocado en un baño de agua con agitación ultrasónica a 50°C durante 30 minutos. La extracción de los VOC's se realizó exponiendo la fibra seleccionada en el espacio de cabeza del vial por 30 minutos a temperatura ambiente. La desorción de los VOC's se llevó a cabo colocando la fibra en el puerto de inyección del cromatógrafo durante 5 minutos. El área bajo la curva del pico de cada compuesto en el cromatograma y su respectiva concentración en la solución patrón (determinada a partir de la pureza cromatográfica), se utilizaron para obtener las ecuaciones mediante las cuales se calculó la concentración de los 21 compuestos identificados en los quesos. Los datos obtenidos en el queso elaborado con leche cruda se utilizaron para determinar la concentración de VOC's en los quesos elaborados con cultivo mesofílico y termofílico. La cuantificación se llevó a cabo durante el almacenamiento, los días 1, 8, 15 y 22.

Para explicar el comportamiento de los parámetros empleados en la cuantificación (coeficiente de variación, porcentaje de recobro, límite de detección y cuantificación) se consideraron las características fisicoquímicas de las moléculas identificadas en los quesos (Tabla 3).

b. Análisis de Perfil de Textura (TPA) (Bourne, 2002)

Se utilizó un texturómetro (Shimadzu, EZ-TEST, Kioto, Japan) utilizando el software “Rheometer” versión 2.05. Una muestra representativa de cada uno de los quesos se cortó en orientación longitudinal respecto a las fibras en segmentos de 2.5 cm² y 8 mm de espesor. La temperatura de los quesos al momento del análisis fue de 16 ± 2°C. Los parámetros de prueba empleados fueron los siguientes: velocidad de ascenso 50 mm/min; velocidad de descenso: 50 mm/min; distancia de compresión: 3 mm, tiempo de recuperación 5 s; número de compresiones: 2. Los atributos que se midieron fueron: adhesividad, firmeza, cohesividad, masticabilidad y elasticidad. En cada lote de queso la medición se realizó por sextuplicado.

c. Análisis del color (CIE, 2004)

Para la medición del color en los quesos se utilizó un espectrofotómetro (Konica Minolta, CR-400, USA) con iluminante 65D, que corresponde a luz de día. La escala de medición de color fue CIE L*a*b*. El color se midió en segmentos de 2.5 cm² y 8 mm de espesor. Las mediciones se realizaron por triplicado. El índice de blancura se calculó con la siguiente ecuación:

$$IB = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + (a^2 + b^2)}$$

Donde L, a y b son las coordenadas cromáticas del sistema CIE L*a*b*. Este parámetro nos indica la proximidad que tiene una muestra respecto al blanco perfecto (L = 100, a* = 0, b* = 0). Es ampliamente utilizado para dar seguimiento a la vida útil de que sufren procesos de obscurecimiento.

2.2.4. Análisis sensorial

Las sesiones de evaluación se llevaron a cabo en el laboratorio de análisis sensorial de la Facultad de Química (UAEMéx). Los análisis efectuados a los tres quesos experimentales fueron:

a. Análisis sensorial descriptivo

En sesiones abiertas se identificaron y describieron 32 atributos representativos para el queso Oaxaca, se establecieron las técnicas de evaluación para cada atributo y se precisaron los productos que servirían como referencia. Una vez establecido el protocolo de evaluación, en sesiones de evaluación individual se cuantificaron los atributos de los quesos utilizando una escala continua de 10 puntos, (0= no se percibe del atributo, 1= mínima intensidad percibida, y 9=máxima intensidad percibida) (Lawless and Heymann, 2010). 10 panelistas entrenados (8 mujeres y 2 hombres) evaluaron los quesos por triplicado en cabinas sensoriales individuales bajo la luz blanca y la presión de aire positiva. Se aplicó un diseño cuadrado latino de Williams. A cada uno de los 10 jueces se le entregó un set con tres muestras de queso (una por cada queso). Las muestras fueron cortadas en trozos de aproximadamente 3 cm², presentadas en recipientes de polipropileno de 2 onzas con tapa (S200, Inix, México) e identificadas con

códigos aleatorios de tres dígitos. La temperatura de los quesos al momento de la evaluación fue de $16 \pm 2^{\circ}\text{C}$. El sistema de evaluación se desarrolló en tres sesiones cuya duración promedio fue de 1.5 horas. La evaluación de los quesos se hizo en cuatro fases: visual, olfativa, táctil y bucal. Para registrar los datos generados por los jueces se empleó el Software FIZZ en red. (Versión 2.51, Biosystemes, Francia).

b. Análisis sensorial afectivo

Para conocer el nivel de agrado de los quesos experimentales se aplicó una prueba afectiva con 136 consumidores de queso Oaxaca. La evaluación se llevó a cabo mediante una escala hedónica de 9 puntos, en la cual el punto 1 equivalía a “me disgusta muchísimo” y el 9 a “me gusta muchísimo”. Las muestras fueron cortadas en trozos de aproximadamente 3 cm^2 , presentadas en recipientes de polipropileno de 2 onzas con tapa (S200, Inix, México) e identificadas con códigos aleatorios de tres dígitos. La temperatura de los quesos al momento de la evaluación fue de $16 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Los atributos evaluados a nivel afectivo fueron la apariencia, el olor, sabor, textura y preferencia global. La población estuvo integrada por personas entre 18 y 64 años de edad, de los cuales 92 fueron mujeres y 44 hombres. La recopilación de los datos se realizó mediante formatos impresos.

2.3. Monitoreo de cambios en las características de los quesos Oaxaca experimentales durante su vida útil

Durante el almacenamiento en refrigeración (4°C), los días 1, 8, 15 y 22 se realizaron los siguientes análisis a los quesos:

2.3.1. Análisis fisicoquímicos

Análisis descritos en el apartado 2.2.1. incisos: a, b, c, d y e.

2.3.2. Análisis microbiológicos

Análisis descritos en el apartado 2.2.2. incisos: a, b, c, d, e y f.

2.3.3. Análisis instrumentales

Análisis descritos en el apartado 2.2.3. incisos: a, b y c.

2.3.4. Análisis sensorial

Análisis descritos en el apartado 2.2.4. inciso a y b.

2.4. Evaluación de queso Oaxaca comercial (artesanal e industrial)

Se evaluaron 15 quesos Oaxaca artesanales adquiridos en tres Estados de la región centro-sur de la República Mexicana (Estado de México, Hidalgo y Oaxaca). Dichos estados representan a las zonas de producción artesanal. El queso industrial se adquirió en supermercados de Toluca, Estado de México eligiendo las 30 marcas de mayor demanda. Los 30 quesos industriales fueron clasificados dentro de cinco grupos (de seis quesos cada uno) en función de sus características sensoriales. De cada grupo se seleccionaron los dos quesos más representativos y fueron evaluados con los siguientes análisis:

2.4.1. Análisis fisicoquímicos

Análisis descritos en el apartado 2.2.1. incisos: a, b, c, d y e.

2.4.2. Análisis microbiológicos

Análisis descritos en el apartado 2.2.2. incisos: a, b, c, d, e y f.

2.4.3. Análisis instrumentales

Análisis descritos en el apartado 2.2.3. incisos: a, b y c.

2.4.4. Análisis sensorial

Análisis descritos en el apartado 2.2.4. incisos a y b.

2.5. Selección y entrenamiento del panel de Evaluación sensorial

2.5.1. Convocatoria y preselección de jueces

Se llevó a cabo una convocatoria con estudiantes de la licenciatura de Química en Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx). En una reunión informativa se dieron a conocer los objetivos del proyecto y el procedimiento para conformar un panel de jueces sensoriales. Se recabaron los datos personales de cada uno de los alumnos interesados y por vía electrónica se les envió el cuestionario de preselección para juez sensorial diseñado mediante Google Forms. Con dicho cuestionario se obtuvo información de cada uno de ellos acerca de su estado de salud, hábitos alimenticios, gustos, preferencias y disgustos de consumo en alimentos; con la finalidad de descartar a alguno de los participantes en caso de padecer alguna enfermedad o alergia, o de no ser apto para el entrenamiento por el consumo frecuente de alimentos irritantes, bebidas alcohólicas, cigarro o algún otro producto que pudiera afectar sus capacidades sensoriales.

2.5.2. Selección de jueces

El proceso de selección se llevó a cabo tomando como referencia la técnica descrita en la norma ISO 22935:2009. Los evaluadores se seleccionaron con base en sus habilidades para identificar, discriminar, describir y cuantificar de manera adecuada atributos visuales, aromáticos, texturas manuales y bucales, así como gustos básicos. Estas capacidades se midieron a través de diversas pruebas (Tabla 4) sensoriales que fueron realizadas por duplicado.

Tabla 4. Pruebas aplicadas en la selección de jueces sensoriales

Prueba	Repetición	Código de la Prueba	Software utilizado
Ishihara	1	<i>Prueba A</i>	<i>PowerPoint 2016</i>
Reconocimiento de Aromas	1	<i>Prueba B</i>	<i>Fizz Portable</i>
	2	<i>Prueba C</i>	<i>Fizz Portable</i>
Identificación de Gustos Básicos	1	<i>Prueba D</i>	<i>Fizz Portable</i>
	2	<i>Prueba E</i>	<i>Fizz Portable</i>
Ordenamiento	1	<i>Prueba F</i>	<i>Fizz Portable</i>
	2	<i>Prueba G</i>	<i>Fizz Portable</i>
Comparación Pareada	1	<i>Prueba H</i>	<i>Fizz Portable</i>
	2	<i>Prueba I</i>	<i>Fizz Portable</i>
Dúo-Trío	1	<i>Prueba J</i>	<i>Fizz Portable</i>
	2	<i>Prueba K</i>	<i>Fizz Portable</i>
Triangular	1	<i>Prueba L</i>	<i>Fizz Portable</i>
	2	<i>Prueba M</i>	<i>Fizz Portable</i>
Descriptiva	1	<i>Prueba N</i>	<i>Excel 2016</i>
	2	<i>Prueba O</i>	<i>Excel 2016</i>

2.5.2.1. Prueba de Ishihara

Se llevó a cabo mediante la aplicación de un test de Ishihara compuesto por 21 figuras que permitían conocer si alguno de los candidatos presentaba problemas visuales como alteración de los colores o daltonismo. Las figuras se proyectaron en una pantalla mientras al juez se le proporcionó el siguiente formato de respuesta para que colocará en él su percepción.

PRUEBA ISHIHARA					
Nombre: _____			Fecha: _____		
Instrucciones: Observa las imágenes e indica cual es el número que percibes en cada una de ellas:					
Imagen	No. que percibes	Imagen	No. que percibes	Imagen	No. que percibes
A		B		C	
D		E		F	
G		H		I	
J		K		L	
M		N		Ñ	
O		P		Q	
R		S		T	
¡GRACIAS POR TU PARTICIPACIÓN!					

Una vez concluida la prueba, los resultados se capturaron en una hoja de datos de Excel para realizar el análisis correspondiente, en el cual por medio de porcentaje de aciertos se definió la capacidad visual de los candidatos.

2.5.2.2. Prueba de Reconocimiento de aromas

Se les presentó a cada uno de los candidatos una serie de 10 muestras de alimentos: flan, leche cocida, leche fresca, cuajo, yogurt, kéfir, corteza de queso, cajeta, ácido butírico y diacetilo. Las muestras se sirvieron en vasos de plástico de 4 onzas con tapa (para concentrar los compuestos volátiles responsables del aroma). Posteriormente se les pidió a los candidatos que identificaran y mencionaran los olores que percibían en cada una de las muestras, respondiendo el cuestionario emitido por el software.

Los compuestos aromáticos empleados fueron: esencia de rompopo, esencia de uva, 2-3 pentanodiona, metilamilcetona, laurato de etilo, decanal, furfural, diacetilo, indol, ácido láctico y ácido butírico. Las muestras fueron presentadas de la misma manera que en la prueba B. Se les pidió a los evaluadores que identificarán las notas olfativas que percibían de manera exacta o mediante evocaciones y que los colocaran en el cuestionario emitido por FIZZ Portable. Los resultados obtenidos de cada candidato se compararon contra una Tabla de notas olfativas y evocaciones diseñada con base en los resultados de un panel de jueces entrenados y bibliografía especializada (Tabla 5). Si el juez acertaba en un 70 por ciento con sus evocaciones, su respuesta se consideraba correcta.

Tabla 5. Compuestos, notas y evocaciones utilizadas en la prueba de reconocimiento de aromas

Compuesto	Notas olfativas y evocaciones
Esencia de rompopo	Rompopo, canela, frutal, alcohol.
Esencia de uva	Uva, grosella, frutal.
2-3 pentanodiona	Mantequilla, queso, grasa rancia (productos fritos, grasoso), totopos, maderoso (ligeramente ahumado).
Metilamilcetona	Plátano, especiado, frutal (manzana), dulce.
Laurato de etilo	Floral, afrutado (manzana, plátano, pera), ron, jabón, graso, plástico.
Decanal	Cítricos (naranja), cilantro (nota verde), dulce, ceroso, frutal.
Furfural	Ahumado, maderoso, almendras, resina, canela, flan, pan, caramelo), cereza.
Diacetilo	Mantequilla, queso (rufles), tortilla frita, nachos, palomitas.
Indol	Fecal, animal, establo, podredumbre (podrido), naftalina, en bajas concentraciones aroma floral.
Ácido Láctico	Crema ácida, nota láctea, reacción de Maillard (azúcar, trigo, malta, dulce, pan, galleta, nuez), cajeta quemada, ciruela pasa.
Ácido Butírico	Mantequilla rancia, agrío, animal, queso, pungente, fermentada.

2.5.2.3. Prueba de Identificación de Gustos Básicos

Se prepararon soluciones de cada uno de los gustos básicos empleando las concentraciones mostradas en el Tabla 6. A cada uno de los jueces se les presentó un set de 4 muestras por cada gusto básico (dulce, ácido, salado, amargo) y un blanco, codificadas con números aleatorios de 3 cifras, se le pidió al candidato que probará las muestras e identificará cada uno de los gustos básicos, tal como se indica en la norma ISO 22935:2009. Para verificar la capacidad de discriminación de los gustos básicos por parte de los panelistas la prueba se aplicó nuevamente con concentraciones menores (Tabla 6).

Tabla 6. Soluciones para Identificación de Gustos básicos

Gusto básico	Sustancia empleada	Concentración 1	Concentración 2
Dulce	Sacarosa	10	5
Salado	Cloruro de sodio	2	1
Ácido	Ácido cítrico	0.3	0.15
Amargo	Clorhidrato de quinina	0.003	0.001

2.5.2.4. Prueba de Ordenamiento

Para esta prueba se entregó a cada uno de los jueces un set de 4 muestras por cada gusto básico, adicionalmente se les dieron muestras del atributo de cremosidad (a diferentes concentraciones), codificadas con números aleatorios y se les pidió que ordenaran las muestras de menor a mayor, de acuerdo a la intensidad del gusto básico percibido o el atributo “cremosidad”. Esta prueba se realizó dos veces con concentraciones diferentes. En el Tabla 7 se indican las concentraciones empleadas en las soluciones de cada gusto básico y el atributo “cremosidad”.

Tabla 7. Soluciones para prueba de Ordenamiento de Gustos básicos.

Atributo	Posición	Concentración 1	Concentración 2
Dulce	1°	0	0
	2°	5	3.5
	3°	10	4.5
	4°	15	5.5
Amargo	1°	0	0
	2°	0.001	0.0011
	3°	0.003	0.0022
	4°	0.005	0.0033
Salado	1°	0	0
	2°	1.0	0.5
	3°	1.5	0.7
	4°	2.0	0.9
Ácido	1°	0	0
	2°	10	0.05
	3°	20	0.10
	4°	30	0.15
Cremosidad	1°	0%	0 %
	2°	2%	1.0 %
	3°	3%	1.5 %
	4°	4%	2.0 %

2.5.2.5. Prueba de Comparación Pareada

Se prepararon dos muestras con diferente concentración esencia sabor “Leche condensada” sin color (Deiman S.A. de C.V., México) en jarabe 5 °Brix (Tabla 8). Se le presentó a cada juez un set con cuatro pares de muestras codificadas con números aleatorios de tres cifras y se les pidió a los jueces que indicaran si las muestras eran iguales o diferentes, en caso de percibir alguna diferencia entre los pares de muestras tenían que indicar en qué atributo eran distintas. El orden de las muestras se siguió de acuerdo al diseño mostrado en el Tabla 9.

Tabla 8. Concentración de las muestras para la prueba de Comparación Pareada

Muestra	Sabor	Saborizante (mL)	Volumen de Jarabe (L)	Concentración (mL/L)
A	Leche condensada	11.25	2.5	4.5
B	Leche condensada	12.5	2.5	5.0

Tabla 9. Orden de presentación de muestras para Comparación Pareada

Juez	Par 1		Par 2		Par 3		Par 4	
1	B	B	A	A	A	B	B	A
2	A	A	B	A	B	B	A	B
3	B	A	A	B	A	A	B	B
4	A	B	B	B	B	A	A	A

2.5.2.6. Prueba Dúo-Trío

Esta prueba se llevó a cabo evaluando dos muestras con diferente concentración de esencia sabor “Nata” sin color (Deiman S.A. de C.V., México) aplicada en jarabe 5 °Brix (Tabla 10). A cada juez se le proporcionó un set con tres muestras, una codificada como R y las otras dos etiquetadas con números aleatorios de tres cifras, posteriormente se le indicó al juez que seleccionara aquella muestra que era igual a R. El orden de presentación de las muestras se presenta en el Tabla 11.

Tabla 10. Concentración de las muestras para la prueba Dúo-Trío

Muestra	Sabor	Saborizante (mL)	Volumen de Jarabe (L)	Concentración (mL/L)
A	Nata	5.0	2.5	2.0
B	Nata	7.5	2.5	3.0

Tabla 11. Orden de presentación de muestras para Prueba Dúo-Trío

Juez	Muestras		
1	R = B	B	A
2	R = A	B	A
3	R = B	A	B
4	R = A	A	B

2.5.2.7. Prueba Triangular

Se prepararon dos muestras en jarabe 5 °Brix con diferente concentración (Tabla 12) de esencia sabor “Rompopé” sin color (Deiman S.A. de C.V., México). A cada juez se le entregó un set con tres muestras, cada una de ellas codificada con números aleatorios de tres cifras. Se le

pidió al juez que detectara cuál de las tres muestras era la diferente. El orden de presentación de las muestras se presenta en el Tabla 13.

Tabla 12. Concentración de las muestras para la prueba Triangular

Muestra	Sabor	Saborizante (mL)	Volumen de Jarabe (L)	Concentración (mL/L)
A	Rompoppe	5.0	2.5	2.0
B	Rompoppe	7.5	2.5	3.0

Tabla 13. Orden de presentación de muestras para Prueba Triangular

Juez	Muestras		
1	A	B	B
2	A	A	B
3	B	A	B
4	B	A	A
5	B	B	A
6	A	B	A

2.5.2.8. Prueba Descriptiva

El grupo de candidatos fue dividido en grupos de 5 personas. Estos subgrupos fungieron como un panel sensorial descriptivo. A cada grupo se le solicitó que evaluará dos productos: un flan napolitano casero y un queso Oaxaca marca “Lala”. A cada panelista se les asignó un formato de evaluación en el que debía generar máximo 5 atributos característicos de cada producto en cuanto al olor, textura y sabor. La prueba se realizó de manera individual y posteriormente de manera grupal se compartieron los atributos descriptivos con el objetivo de conocer tanto su habilidad descriptiva como su facilidad para interactuar con los otros integrantes del grupo. Esta prueba se repitió en los mismos grupos con otros dos productos diferentes: galletas “Emperador®” sabor vainilla-chocolate y papas fritas “Ruffles®” sabor queso.

2.5.2.9. Análisis secuencial y criterios de selección de la norma ISO 22935:2009

El desempeño de los candidatos en las pruebas de selección se evaluó mediante la aplicación de un análisis secuencial, con ello se evaluó el rendimiento que presenta cada uno de los candidatos, a través del número de ensayos que realizaron y con los que demostraron sus habilidades como jueces sensoriales. Para la elaboración del análisis secuencial (Figura 9) se consideraron las siguientes variables:

- **Error Tipo I y Tipo II:** tipo 1; probabilidad de rechazar a un buen juez (0.05) y tipo II; probabilidad de aceptar a un mal juez (0.05).
- **Límites de aceptación y rechazo (L_0 y L_1):** el límite de habilidad para ser rechazado como juez ($L_0 = 0.45$) y el límite de habilidad para ser aceptado como juez ($L_1 = 0.65$).

- **Número de ensayos requeridos:** total de pruebas que debe realizar un candidato para definir su habilidad.
- **Respuestas acumulativas:** la sumatoria de cada respuesta correcta, cuyo valor define la zona en que quedó ubicada la habilidad del candidato y determinó si era aceptado o rechazado.

Se calcularon las pendientes L_0 y L_1 que representan el límite inferior (máxima habilidad inaceptable) y superior (mínima habilidad aceptable) respectivamente. En la figura 9 estos límites se indicaron por un par de líneas paralelas, las cuales limitaron las siguientes zonas:

- **Zona de rechazo,** en la que el juez no demostró tener habilidad para ser seleccionado como juez sensorial;
- **Zona de incertidumbre,** en la que el candidato tuvo que realizar un mayor número de ensayos para determinar si contaba con la habilidad necesaria; y
- **Zona de aceptación,** en la que el juez hizo evidente su habilidad para ser seleccionado como juez analítico de evaluación sensorial.

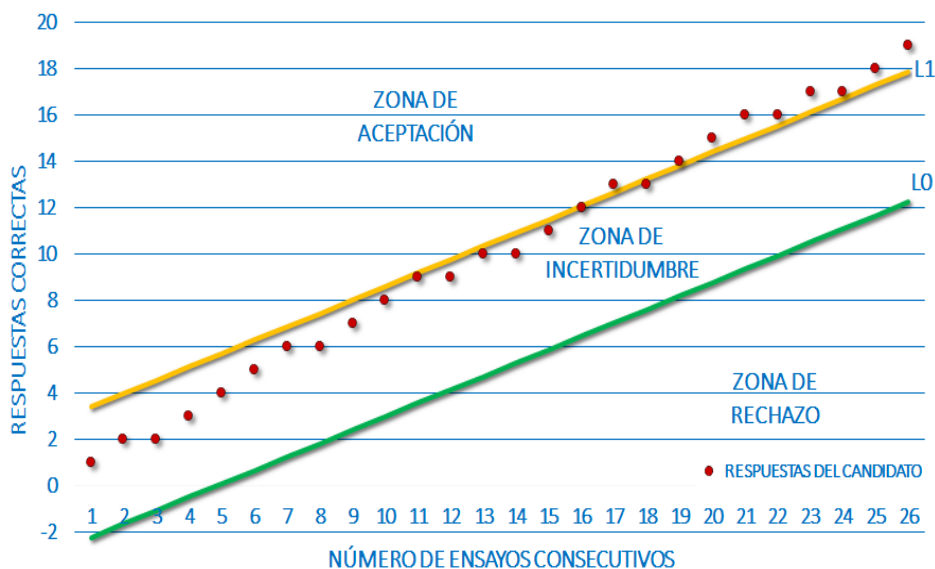


Figura 9. Gráfico del análisis secuencial para la selección de jueces sensoriales

El criterio para aceptar a un candidato, fue que alcanzara un nivel de asertividad del 65% o superior al efectuar diversas pruebas de la etapa de selección, es decir, que sobrepasara el L_1 , presentándose en la zona de aceptación.

Los datos obtenidos en las pruebas de selección también fueron analizados mediante los criterios establecidos en la norma ISO 22935:2009, se les asignó una puntuación y se realizó una comparación con el método estadístico.

2.6. Entrenamiento de Jueces Sensoriales

De un total de 33 candidatos, se seleccionaron 18 para ser entrenados mediante un curso teórico-práctico de evaluación sensorial enfocado a productos lácteos, con el objetivo de contribuir al desarrollo de su habilidad sensorial. Se formaron dos grupos de manera aleatoria (A y B), integrados por 10 y 8 personas respectivamente (la integración de los grupos fue definida por la disponibilidad de horario de los jueces). Con el grupo A se trabajó el método tradicional para el entrenamiento de jueces sensoriales, descrito en las normas ISO 22935:2009 e ISO 8586:2008; y con el grupo B se realizó una variación del método incluyendo la técnica FCM™ (Feedback Calibration Methodology).

El entrenamiento de los jueces sensoriales se desarrolló mediante las siguientes etapas:

2.6.1. Definición de la “Voz” del Producto

La voz de producto es un método desarrollado por Pentasensorial S.A. de C.V. que se basa en la definición de cinco características que debe tener un atributo sensorial para poder ser identificado, discriminado y cuantificado dentro de un perfil sensorial. Estas características son: nombre, definición, protocolo, referencia y escala. El nombre representa la denominación del atributo; la definición, cómo se entiende; el protocolo, enuncia la manera en que será evaluado; la referencia, es una muestra o grupo de muestras de comparación que permitirán anclar intensidades; y la escala, indica el mecanismo de medición. De esta forma cualquier producto puede ser adecuadamente definido en la totalidad de sus atributos sensoriales. Para la etapa inicial del entrenamiento se les explicó brevemente a los jueces que es la voz del producto, cómo está conformada, y cómo se utiliza.

2.6.2. Fase Visual

En esta etapa los jueces fueron entrenados en atributos visuales mediante una presentación de PowerPoint con imágenes de diferentes tipos de quesos (Tabla 14), cada una de las imágenes tenía relación directa con los atributos que se deseaban enfatizar, tales como: formas, tamaños, colores, tipo de corteza, tipo de pasta y algunas texturas visuales, es decir, se mostraron algunas imágenes de quesos con forma de pera y cono como el queso San Simón y Bureba, respectivamente, para que los jueces fueran capaces de relacionar el vocabulario con productos que ellos consumían frecuentemente.

Tabla 14. Características visuales evaluadas en los quesos durante la etapa de entrenamiento

Apariencia exterior			
a. Forma	Queso	c. Color (corteza)	Queso
Pera	San Simón	Marrón	San Simón
Seta	Cebreiro	Marrón parduzco	Ahumado de Aliva
Discoidal	Arzúa	Verde azulado	De Babia y Laciana
Piriforme	Tetilla	Ocre	Herreño
Cono	Bureba	Caoba	Del Valle de Arán
Caras laterales rectas	Roncal	Gris	Zamorano
Caras laterales redondas	De la Serena		
Ovalado	Villalón	d. Cualidades de superficie (corteza)	
Globoso	Afuega'l pitu	Bien definida	Roncal
Sección cuadrada	Mahón	Sin corteza	Cassoleta
Sección rectangular	Vidiago	Natural	Picón
		Compacta	Castellano
b. Dimensiones y peso		Cerrada	Tronchón
Peso inferior a ½ Kg	Beyos	Dura	De los pedroches
Peso de a 1 a 3 Kg	Idiazabal	Lisa	Mahón
Peso de 5 a 7 Kg	Gamonedo	Estriada	Servilleta
		Rugosa	Cabrales
c. Color (corteza)		Escaldada	San Simón
Blanco	Burgos	Cerosa	Arzúa
Blanco amarillento	Cebreiro	Untuosa	Grazalema
Blanco intenso	Camerano	Aceitosa	Zamorano
Beige amarronado	De La Gomera	Pimentonada	Majorero
Beige amarillento	Idiazabla	Ahumada	Idiazábal
Beige anaranjado	Acehuche	Con ceniza	Montsec
Amarillo	Servilleta	Enmohecida	Gamonedo
Amarillo blanquecino	Flor de Guía	Húmeda	Aracena
Amarillo tenue	Manchego	Suave	Afuega'l pitu
Amarillo ceroso	De La Serena	Tenue	Pasiego
Amarillo pálido	Ansó-Hecho	Aterciopelada	Garrotxa
Amarillo oscuro	Alhama	Brillante	Torta del casar
Amarillo pajizo	Arzúa		
Anaranjado	Conejero		
Apariencia interior			
a. Color de la pasta	Queso	b. Tipo de pasta	Queso
Blanco	Burgos	Con estrías	Ahumado de Ávila
Blanco marfil	Castellano	Con oquedades	Idiazábal
Amarillo pálido	Manchego	Con cavidades	Cabrales
Amarillo pajizo	De Aracena	Gelatinosa	Burgos
Amarillo beige	Del Valle de Arán	Granulada	Picón
Verde azulado	Cabrales	Elástica	Vidiago
Marrón	De La Serena	Untable	Montsec
Naranja	Afuega'l pitu	Frágil	Roncal
	pimentonado	Gomosa	Majorero
		Blanda	De La Serena
b. Tipo de pasta		Líquida	Torta del casar
Compacta	Acehuche	Pimentonada	Afuega'l pitu
Abierta	Picón	Desmenuzable	Gamonedo
Agrietada	Genestoso	Firme	Manchego
Cerrada y compacta	Zamorano	Blanda y elástica	Herreño
Cerrada y blanda	Tetilla		
Friable	Cebreiro		
Untuosa	Cantabria		

2.6.3. Fase olfativa

En esta etapa del entrenamiento se incluyeron atributos que se perciben a través de la vía ortonasal y retronasal. A cada juez se le asignó un set de referencias correspondientes a las familias y subfamilias de olores que se pueden encontrar en un queso (Tabla 15). Dichas muestras fueron colocadas en vasos de plástico de 4 onzas con tapa de cierre hermético. Se les indicó a los jueces que debían oler cada una de las muestras para después percibir, reconocer e identificar las notas olfativas presentes en cada referencia por medio de evocaciones.

Tabla 15. Clasificación de los principales olores que se pueden percibir en quesos y ejemplos de referencias naturales para cada grupo de aromas

Familias	Subfamilias	Descriptorios
LÁCTICA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Láctico fresco 2. Láctico cocido 3. Láctico acidificado 4. Corteza de queso 	<p>Leche fresca, cuajada fresca, nata, mantequilla. Leche cocida, mantequilla fundida. Cuajada acidificada, kéfir, yogurt, lactosuero ácido. Corteza de queso.</p>
VEGETAL	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hierba 2. Hierba fermentada 3. Verduras cocidas 4. Aliáceos 5. Madera 	<p>Pasto cortado, heno. Pasto mojado, heno fermentado. Papas, chicharos, zanahorias, coliflor. Ajo, cebolla. Humus, viruta de madera</p>
MICROBIOTAL	<ol style="list-style-type: none"> 1. Miel 2. Flores 	<p>Miel de abeja. Rosa, Violeta</p>
AFRUTADA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Granos secos 2. Cítricos 3. Frutas exóticas 4. Frutas de hueso 5. Frutas procesadas 6. Aceites de frutos 	<p>Avellana, nuez, castaña, almendra Naranja, limón, toronja Plátano, piña Chabacano, manzana Frutas cocidas, secas, fermentadas Aceite de oliva</p>
TORREFACTA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Caramélico ligero 2. Caramélico medio 3. Caramélico fuerte 4. Granos tostados 	<p>Bizcocho, vainilla Caramelo blando Caramelo y chocolate oscuro, cebolla tostada, café Avellana, cacahuete, almendra pelada, tostadas</p>
ANIMAL	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vaca/Establo 2. Carne 3. Cuajo 4. Estiércol 5. Oveja 6. Cabra 	<p>Establo de vacas, cuero, sudor. Caldo de carne, carne de res Cuajo de ternero Estiércol de bovinos Corral de ovejas Corral de cabras</p>
ESPECIAS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Especiado ardiente 2. Especiado refrescante 3. Especies 	<p>Pimienta, pimentón Menta, yerbabuena Nuez moscada, tomillo, romero</p>
OTROS		<p>Propiónico, butírico, rancio. Amoniacal, acético, picante en nariz, agrío. Sulfuroso, jabón, mohoso, pútrido.</p>

Fuente: Sandoval, 2015

Posteriormente se emplearon diferentes sustancias aromáticas que están presentes en quesos y/o diferentes productos lácteos (Tabla 16). Estas sustancias se presentaron en vaso de plástico

de 2 onzas con cierre hermético, con el fin de concentrar los compuestos volátiles responsables del olor y se les pidió a los jueces asociar las notas olfativas percibidas con productos que frecuentemente consumían, para con ello generar memoria sensorial y facilitar la percepción de las sustancias aromáticas presentes en otros productos lácteos.

Tabla 16. Sustancias químicas utilizadas para identificar aromas durante el entrenamiento

Compuesto	Nota
Ácido Acético	Pungente, vinagre, madre de vinagre, salsa valentina, vinagre de chiles en escabeche.
Ácido Butírico	Pungente, mantequilla rancia, popo de bebé, queso rancio, trapo sucio.
Ácido Caprónico	Queso rancio, corteza de queso, grasa rancia, ceroso (vela), pimienta blanca, pungente
Ácido Isovalérico	Chile en polvo, miel, corteza de queso, “selz soda”, pungente bajo
Ácido Láctico	Ciruela pasa, nuez, “Baileys original”, licor de café, caramelo blando, “miel Karo”, “Avena Quaker con nueces, pasas, dátiles y azúcar morena”
Ácido Propiónico	Pungente, mantequilla rancia, vinagre
γ-dodecalactona	Espuma de fiesta, durazno, caramélica, aceite de oliva, guanábana, cremoso
δ-decalactona	Cocada, limón, tutifrutí, higo caramelizado, hierbabuena, apio, nota verde
Decanal	Dulce de naranja, “Fabuloso cítricos”, “Chipileta”, “Mirinda”, cilantro
Diacetilo	Rufles de queso, tortilla frita, nachos, palomitas de Cinopolis, totopo
Laurato de etilo	Chocolate rancio, caramelo de café. Vómito, jabón, polvoso, talco
Furfural	Cereza, licor de almendras, aceite de almendras, ahumado, grasa para bolear zapatos, maderoso
Ácido Oleico	Chicharrón, manteca de cerdo, carnitas frías, cebo, rancio, aceite de ricino
Metilamilcetona	Plátano, chicle de plátano, plumón para pizarrón, mentol.
Acetoína	Yogurt, vinagre de manzana, cítricos podridos, aceitunas, piña fermentada.
Butiraldehído	Queso doble crema, tomate verde, plátano natural, hierba (nota verde)
Acetaldehído	Manzana verde, etanol, silicón frío, pera, “Caribe cooler de manzana”
Ácido caprílico	Vómito de bebé, pungente, crayola, cera, queso de cabra, silicón de barra
2,3 Pentanodiona	Tortilla frita, totopos, maíz de queso
Indol	Plástico corriente, naftalina, fecal, hierba fermentada, agua estancada, agua de florero de panteón
Sulfuro	Vitamina B, medicamento, Yoplait natural, nata
Ácido valérico	Queso Cotija, corteza de queso, mantequilla rancia, animal, manzanilla.

2.6.4. Fase bucal

En la fase bucal, además de percibir los gustos básicos, se evalúan las texturas bucales, atributos aromáticos y sensaciones trigeminales (sensaciones irritantes o agresivas percibidas en la cavidad bucal). Para describir los atributos de textura percibidos en la fase bucal se eligieron diferentes productos de referencia. Para cada uno de los atributos evaluados se escogieron tres productos que representaran claramente el atributo analizado en diferentes intensidades: parte baja (1), media (5) y alta (9) de la escala de evaluación. En el Tabla 17 se describen los productos de referencia utilizados.

Tabla 17. Productos de referencia empleados para evaluar atributos de textura bucal

Producto	Valor*	Atributo
Queso Philadelphia	1	Blando
Aceituna rellena de pimiento rojo	5	Firme
Goma de mascar confitada	9	Duro
Clara de huevo cruda	1	Nada desmoronable
Queso doble crema "Chilchota"	5	Desmoronable
Galletas saladas "Ritz"	9	Altamente desmoronable
Chícharos cocidos	1	Tierno
Caramelo suave "Aciduladito"	5	Masticable
Salami "Peperami"	9	Correoso
Polvorón casero	1	Harinoso
Puré de papa	4	Arenoso
Frijoles cocidos	6	Pastoso
Gomitas de grenetina "Panditas"	9	Gomoso
Agua	1	Fluido
Atole "Maizena"	5	Espeso
Leche condensada	9	Viscoso
Clara de huevo cocido	1	Sin adherencia
Pan Blanco Bimbo	5	Adherente
Yema de huevo cocido	9	Elevada Adherencia
Apio crudo	1	Fibroso
Gajo de naranja	4	Celular
Azúcar morena	6	Cristalino
Malvavisco "De la Rosa"	9	Esponjoso
Mazapán "Montez"	1	Seco
Manzana roja	4	Húmedo
Naranja natural	6	Jugoso
Sandía natural	9	Acuoso
Atún en aceite "Dolores"	1	Aceitoso
Chicharrón de cerdo	5	Grasiento
Manteca de cerdo	9	Seboso

* Se refiere al valor de referencia en intensidad usando una escala 9 puntos

Una vez que los jueces se familiarizaron y memorizaron las sensaciones producidas por los productos de referencia, se realizó un ejercicio de retroalimentación en el que los jueces

evaluaron el queso Oaxaca experimental elaborado con leche cruda. Se les pidió a los jueces que identificaran y cuantificaran los atributos bucales recién apprehendidos.

La identificación de gustos básicos se llevó a cabo empleando muestras de requesón en las que se aplicaron soluciones representativas de cada gusto básico a diferentes concentraciones. Las concentraciones que se utilizaron se presentan en los Tablas 18 y 19.

Tabla 18. Soluciones de referencia empleadas para la identificación de gustos básicos

Gusto básico	Sustancia empleada	Concentración 1 (g/L)	Concentración 2 (g/L)
Dulce	Sacarosa	5.5	10
Ácido	Ácido cítrico	0.5	1
Salado	Cloruro de sodio	1.2	2
Amargo	Clorhidrato de quinina	0.1	0.2

Tabla 19. Muestras de requesón para la identificación de gustos básicos

Gusto básico	Sustancia empleada	Concentración (g/L) de la solución madre (SM)	Intensidad del gusto básico*	SM (mL) en 100 g de requesón
Dulce	Sacarosa	150 g	2 de 9	3
			8 de 9	10
Ácido	Ácido cítrico	2 g	2 de 9	1.25
			8 de 9	2.25
Salado	Cloruro de sodio	50 g	2 de 9	3.5
			8 de 9	10
Amargo	Clorhidrato de quinina	1 g	2 de 9	0.75
			8 de 9	1.75

*Hace referencia a la intensidad del atributo usando una escala de 1 a 9

En una primera etapa, los jueces debían identificar y cuantificar (mediante una prueba de ordenamiento) la intensidad de los gustos básicos en solución (Tabla 18). Posteriormente, los panelistas debían identificar los gustos básicos en las muestras de requesón e indicar la intensidad percibida.

2.6.5. Fase de Retroalimentación

En esta etapa se les pidió a los jueces que evaluaran algunos atributos en diferentes productos, empleando una escala continua de intensidad de 9 puntos. Después de la evaluación individual, los panelistas recibieron una retroalimentación sobre la intensidad de los atributos mediante una representación gráfica (Figura 10).

Brillante

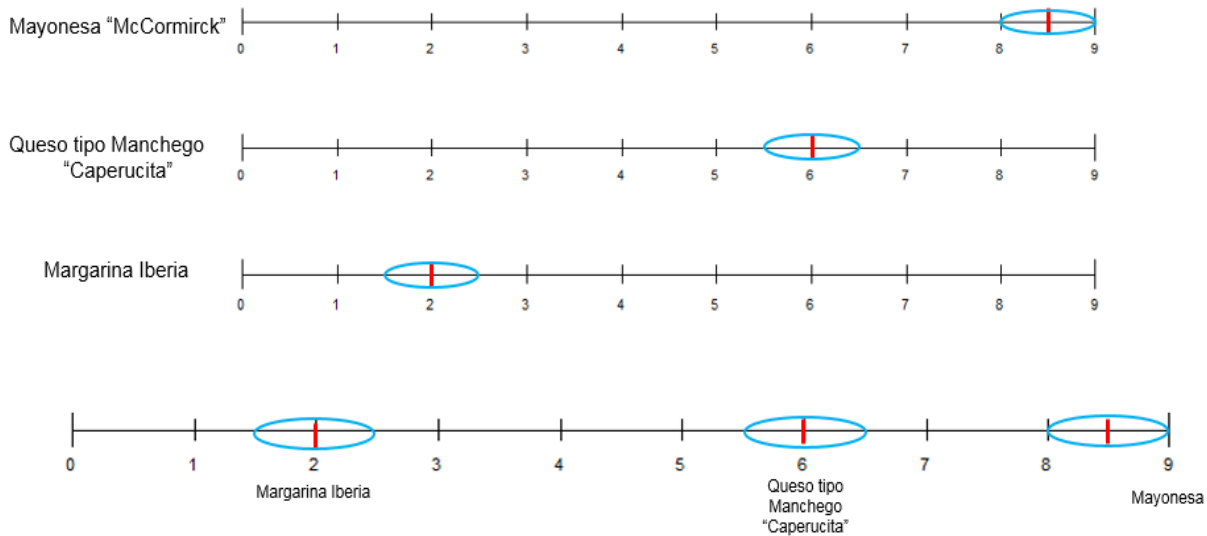


Figura 10. Ejemplo de evaluación y manejo de escala en la fase de retroalimentación

Los valores de la representación gráfica fueron definidos por un panel entrenado de evaluación sensorial. Cada parámetro contaba con un valor ideal y una tolerancia de ± 0.5 unidades. Para cada atributo se definieron tres parámetros que representaban la parte baja, media y alta de la escala de intensidad (Tabla 20).

Tabla 20. Atributos evaluados en la fase de retroalimentación

Fase	Atributo	Muestras de Productos	Calificación	Intervalo
Visual	Madeja redonda	Imagen Madeja A	8.5	8.0-9.0
		Imagen Madeja B	6.0	5.5-6.5
		Imagen Madeja C	3.0	2.5-3.5
	Color verde	Color A	8.0	7.5-8.5
		Color B	5.0	4.5-5.5
		Color C	1.5	1.0-2.0
	Brillante	Mayonesa McCormick	8.5	8.0-9.0
		Queso Manchego Caperucita	6.0	5.5-6.5
		Margarina Iberia	2.0	1.5-2.5
Húmedo	Gelatina Jelly-doo	8.5	8.0-9.0	
	Manzana Amarilla	6.0	5.5-6.5	
	Queso Panela Chilchota	3.0	2.5-3.5	
Estriado	Hoja para tamal	8.5	8.0-9.0	
	Apio	5.0	4.5-5.5	
	Pasto	3.0	2.5-3.5	

	Grasoso	Mayonesa McCormick	8.0	7.5-8.5
		Crema Lala	5.0	4.5-5.5
		Margarina Iberia	2.0	1.5-2.5
	Húmedo	Gelatina Jelly-doo	8.5	8.0-9.0
		Manzana Amarilla	5.0	4.5-5.5
		Queso Panela Chilchota	2.0	1.5-2.5
Táctil	Grasoso	Mayonesa McCormick	8.5	8.0-9.0
		Crema Lala	6.0	5.5-6.5
		Duvalín	3.0	2.5-3.5
	Elástico	Gelatina Jelly-doo	8.0	7.5-8.5
		Malvavisco De la Rosa	5.0	4.5-5.5
		Cuernito Tía Rosa	2.0	1.5-2.5
	Firme	Ate de Membrillo	8.0	7.5-8.5
		Queso Panela Chilchota	4.5	4.0-5.0
		Mantequilla La Gloria	1.5	1.0-2.0
	Láctico	Kéfir	8.5	8.0-9.0
	Acidificado	Yogurt Alpura Natural	6.5	6.0-7.0
		Yakult	4.0	3.5-4.5
	Olor a Naranja	Naranja Natural	8.5	8.0-9.0
		TANG de Naranja	5.5	5.0-6.0
		Polvorones Marinela	2.0	1.5-2.5
	Láctico Cocido	Leche hervida	8.5	8.0-9.0
		Queso Manchego Caperucita	5.5	5.0-6.0
		Arroz con leche LALA	2.0	1.5-2.5
Olfativa	Olor a Vainilla	Esencia de Vainilla	8.5	8.0-9.0
		Mantecadas Bimbo	5.5	5.0-6.0
		Polvorones Marinela	2.0	1.5-2.5
	Olor a Etanol	Alcohol etílico	8.5	8.0-9.0
		Tequila Sauza	5.5	5.0-6.0
		Boones	2.0	1.5-2.5
	Olor a Piña	Piña Natural	8.5	8.0-9.0
		Leche Alpura Frutal-Piña Coco	5.5	5.0-6.0
		Zuko de Piña	3.0	2.5-3.5
	Láctico Cocido	Leche hervida	8.5	8.0-9.0
		Queso Manchego Caperucita	5.5	5.0-6.0
		Queso Panela Chilchota	3.0	2.5-3.5
	Sabor a Limón	Jugo de Limón Natural	8.5	8.0-9.0
		Zuko de Limón	5.5	5.0-6.0
		Tajín	2.0	1.5-2.5
		Yogurt A (2g de sucralosa)	8.5	8.0-9.0

Bucal	Dulce	Yogurt B (1 g de sucralosa)	6.5	6.0-7.0
		Yogurt C (0.5 de sucralosa)	3.0	2.5-3.5
Amargo		Café A (3 g de café)	8.5	8.0-9.0
		Café B (1.5 g de café)	6.0	5.5-6.5
		Café C (0.75 g de café)	3.0	2.5-3.5
		Naranja Natural	8.5	8.0-9.0
Sabor a Naranja		TANG de Naranja	5.0	4.5-5.5
		Polvorones Marinela	2.5	2.0-3.0

2.6.6. Fase de Pruebas Definitivas

Se realizaron evaluaciones sensoriales descriptivas con dos quesos diferentes: un queso fresco de oveja y un queso semi-madurado de cabra. En estas sesiones, los jueces desarrollaron la voz del producto para cada queso. Posteriormente, aplicaron la voz para evaluar individualmente la intensidad de los atributos y generar el perfil descriptivo correspondiente. En esta etapa los jueces debían aplicar todos los conocimientos adquiridos en las diferentes etapas del entrenamiento.

2.6.7. Validación del Entrenamiento

Para validar el proceso de entrenamiento se aplicó una prueba descriptiva en la que los jueces evaluaron la intensidad de 18 atributos representativos del perfil sensorial de queso Oaxaca (Sandoval-Copado *et al.*, 2016). La prueba se desarrolló aplicando un diseño de bloques completamente aleatorizado con tres réplicas. Las muestras empleadas fueron 2 marcas comerciales de queso Oaxaca: “Pilarica” y “La Villita”; y un queso Oaxaca elaborado con leche cruda en la Facultad de Química (UAEMéx). La capacidad de los jueces para definir atributos discriminantes (capacidad de percibir diferencias) se evaluó mediante la aplicación de un ANOVA ($\alpha= 0.05$) de dos vías (muestras y jueces). La reproducibilidad (evaluaciones individuales) y variabilidad (evaluaciones grupales) de los jueces se determinó mediante valores de desviación estándar, considerando como criterio de aceptación un valor igual o menor a 1.

2.7. Tratamiento estadístico de los datos

La validación de la técnica de cuantificación de VOC's se llevó a cabo aplicando un Diseño factorial 2^{4-1} , cuyos datos fueron analizados por regresión lineal múltiple y generación de una superficie de respuesta.

Las diferencias significativas entre variables fisicoquímicas, microbiológicas e instrumentales fueron determinadas mediante un análisis de varianza de un factor y un análisis de comparaciones múltiples por Least significant difference (LSD).

Tanto la validación de la técnica de cuantificación de VOC's como los ANOVA's de los análisis fisicoquímicos, microbiológicos e instrumentales fueron desarrollados en el Software Statgraphics Plus 5.0 (Manugistics Inc., Rockville, MD).

Para determinar las diferencias entre los atributos descriptivos de los quesos Oaxaca, se aplicó un Diseño de bloques completos aleatorizado, cuyos resultados fueron analizados mediante un ANOVA con pseudomixed model de 3 factores y 2 vías ($p \leq 0.05$) y LSD por atributos ($p \leq 0.05$). Para conocer las relaciones entre los atributos de apariencia, aroma, textura y gustos básicos se aplicó un Análisis de Componentes Principales (PCA) con matriz de covarianza ($p \leq 0.05$) empleando el Software FIZZ Calculations versión 2.6 (Biosystemes, France).

Para evaluar la preferencia de los quesos por parte de los consumidores se elaboró un mapeo interno de preferencia; mientras que para determinar la relación entre atributos sensoriales y los gustos del consumidor se llevó a cabo un mapeo externo de preferencia mediante el Software R studio versión r243 (Rstudio, Inc.).

Finalmente, para determinar la relación que existe entre las variables fisicoquímicas e instrumentales con los atributos sensoriales se realizó un Multiple Factor Analysis (MFA) mediante el software R studio versión r243 (Rstudio, Inc.).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características fisicoquímicas de los quesos Oaxaca estudiados

En el apartado anterior se indicó que en esta investigación se estudiaron: quesos Oaxaca elaborados de forma experimental que representan a los quesos artesanales e industriales; quesos artesanales elaborados en tres regiones del país; y quesos industriales elaborados en diversas regiones del territorio nacional. La composición química en base húmeda, contenido de sal y pH de los quesos experimentales se aprecia en la Tabla 21.

Tabla 21. Composición química de los quesos Oaxaca experimentales

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	NaCl	pH
	%				
QC	51.16 ± 0.07 ^a	22.87 ± 0.29 ^a	21.75 ± 0.35 ^a	2.34 ± 0.08 ^a	5.31 ± 0.07 ^a
QM	52.45 ± 0.02 ^b	22.57 ± 0.53 ^a	22.25 ± 0.35 ^a	2.25 ± 0.04 ^a	5.28 ± 0.04 ^a
QT	53.77 ± 0.21 ^c	22.18 ± 0.73 ^a	20.25 ± 0.35 ^b	2.14 ± 0.08 ^a	5.09 ± 0.05 ^b

a,b,c superíndices diferentes entre filas indican diferencia significativa entre las medias de las muestras ($P \leq 0.05$) en la prueba LSD.

La composición química de los quesos Oaxaca presenta variaciones estadísticamente significativas entre los tres quesos, principalmente en el contenido de humedad, lo cual impacta directamente sobre el contenido del resto de los componentes, pues a mayor porcentaje de humedad, menor porcentaje de proteína, grasa y sal. El queso elaborado con cultivo termofílico (QT) fue el que presentó el mayor contenido de humedad, descendió en el queso con cultivo mesofílico (QM) y fue menor en el queso obtenido con leche cruda (QC). Estas diferencias se deben al tiempo que transcurrió para alcanzar el pH de amasado (5.2-5.3) en la cuajada. El descenso de pH, la agitación de la cuajada y la temperatura fomentan la expulsión de lactosuero. El tiempo promedio de acidificación para alcanzar el pH de amasado (5.3-5.2) a 37°C fue de aproximadamente 217, 303 y 361 minutos para QC, QT y QM, respectivamente. De esta manera se tiene que, a mayor tiempo de proceso, hay mayor expulsión de lactosuero y menor humedad en el queso; y un menor porcentaje de humedad concentra el contenido de proteína y grasa (Tabla 21). Cogan *et al.*, (1997) estudiaron la capacidad de producción de ácido láctico por diferentes cepas de BAL aisladas de diversas variedades de queso y leches fermentadas. Reportaron que los distintos géneros de BAL presentan diferentes velocidades de acidificación de la cuajada. En orden decreciente los géneros bacterianos con mayor velocidad de acidificación fueron: *Streptococcus thermophilus*, lactobacilos termófilos, enterococos, lactococos y, finalmente, los lactobacilos mesófilos. En este estudio QT fue acidificado con *S. thermophilus*; QM con *Lactococcus lactis* y el menor contenido de humedad en QC puede atribuirse a la amplia variedad de BAL presentes en la leche cruda, , aunado a que este queso desueró más después del salado.

La norma mexicana NMX-F-733-COFOCALEC-2010 establece la composición química que debe cumplir el queso Oaxaca: 21.5% mínimo de proteína, 20% mínimo de grasa y 51% máximo de humedad. Los quesos experimentales cumplen con el contenido de proteína y grasa, pero presentan valores ligeramente mayores en humedad.

El segundo grupo de quesos estudiados fueron los artesanales (Tabla 22), representados por cinco productores de cada una de las 3 regiones. El primer grupo (QR) corresponde a queso Oaxaca elaborado en Reyes Etlá, Oaxaca, que es la cuna de este queso, donde se denomina quesillo; el segundo grupo (QA) representa a los quesos Oaxaca elaborados en Aculco, Estado de México; QT corresponde a los quesos elaborados en Tulancingo, Hidalgo. Los quesos de las tres regiones presentan una composición química heterogénea.

El contenido de humedad fluctúa entre 47.03 y 61.72%; el de proteína, entre 17.99 y 23.91%; el de grasa, entre 16.75 y 27.5%; el de sal entre 0.95 y 2.37%; mientras que los valores de pH oscilaron entre 4.86 y 5.58.

Tabla 22. Características fisicoquímicas de quesos Oaxaca artesanales elaborados en tres regiones de México

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	NaCl	pH
	%				
QR1	51.45 ± 0.07 ^{fg}	23.91 ± 1.16 ^g	18.00 ± 0.71 ^b	2.37 ± 0.08 ^h	5.06 ± 0.01 ^{cd}
QR2	49.50 ± 1.06 ^{bcd}	21.75 ± 1.21 ^{def}	23.75 ± 0.35 ^{efgh}	2.27 ± 0.11 ^h	5.21 ± 0.01 ^{ef}
QR3	49.93 ± 0.54 ^{cde}	22.41 ± 1.88 ^{ef}	22.75 ± 0.35 ^e	1.67 ± 0.08 ^e	5.12 ± 0.01 ^{de}
QR4	47.03 ± 0.02 ^a	20.69 ± 0.62 ^{cde}	26.50 ± 0.46 ^{ij}	1.96 ± 0.06 ^{fg}	5.39 ± 0.03 ^g
QR5	48.79 ± 0.51 ^{bc}	20.57 ± 2.28 ^{bcd}	24.75 ± 0.23 ^h	2.07 ± 0.01 ^g	5.34 ± 0.04 ^g
QA1	61.72 ± 0.33 ⁱ	18.29 ± 1.38 ^{ab}	16.75 ± 0.35 ^a	1.10 ± 0.02 ^{bc}	4.97 ± 0.06 ^{bc}
QA2	51.01 ± 0.09 ^{efg}	18.75 ± 1.89 ^{abc}	27.50 ± 0.71 ^j	1.46 ± 0.08 ^d	4.86 ± 0.06 ^a
QA3	53.86 ± 0.31 ^h	18.57 ± 0.26 ^{abc}	23.25 ± 0.35 ^{ef}	1.39 ± 0.06 ^d	5.23 ± 0.08 ^f
QA4	51.45 ± 0.22 ^{fg}	17.99 ± 0.19 ^a	26.00 ± 0.01 ⁱ	1.69 ± 0.02 ^e	5.07 ± 0.06 ^{cd}
QA5	50.32 ± 0.16 ^{def}	19.95 ± 0.18 ^{abcd}	26.00 ± 0.71 ⁱ	0.97 ± 0.04 ^b	4.94 ± 0.06 ^{ab}
QT1	48.37 ± 0.05 ^{ab}	22.68 ± 0.19 ^{ef}	23.50 ± 0.01 ^{efg}	0.79 ± 0.08 ^a	5.16 ± 0.07 ^{def}
QT2	54.02 ± 1.68 ^h	21.37 ± 0.29 ^{de}	19.25 ± 1.06 ^c	1.83 ± 0.06 ^{ef}	5.52 ± 0.06 ^h
QT3	49.72 ± 0.11 ^{bcd}	21.25 ± 0.01 ^{de}	24.00 ± 0.05 ^{efgh}	1.19 ± 0.15 ^c	5.20 ± 0.04 ^{ef}
QT4	52.22 ± 1.28 ^g	22.24 ± 0.06 ^{def}	21.00 ± 0.71 ^d	0.95 ± 0.06 ^b	5.58 ± 0.04 ^h
QT5	49.45 ± 0.07 ^{bcd}	22.26 ± 0.18 ^{def}	24.50 ± 0.68 ^{gh}	1.75 ± 0.02 ^e	5.41 ± 0.02 ^g

a,b,c,...j superíndices diferentes entre filas indican diferencia significativa entre las medias de las muestras ($P \leq 0.05$) en la prueba LSD.

De manera general, y en orden decreciente, la composición química de los quesos de las tres regiones varió como sigue: en humedad, Aculco, Tulancingo y Reyes Etlá (Oaxaca); en proteína, Tulancingo, Reyes Etlá y Aculco; en grasa, Aculco, Reyes Etlá, Tulancingo. En esta investigación se nos permitió la entrada a los talleres y observar el desarrollo de los procesos. Se pudo

constatar que cada productor tiene su propio proceso, lo cual explica la heterogeneidad en la composición química de los quesos. La mayoría de los productores visitados concuerdan en que un queso Oaxaca netamente artesanal debe ser elaborado únicamente con leche entera de vaca sin pasteurizar, cuajo natural y sal; acidificado naturalmente y sin la adición de ingredientes no lácteos. Sin embargo, se observaron algunas prácticas contradictorias:

- **Tipo de leche:** uso de leche pasteurizada, semidescremada o adicionada de leche en polvo.
- **Tipo de cuajo:** uso de coagulante microbiano.
- **Tipo de acidificación:** uso de leche ácida, suero acidificado, adición de ácidos o empleo de cultivos lácticos.
- **Tiempo de acidificación:** podía oscilar entre 3 y 36 horas.
- **Temperatura y tiempo de amasado:** entre 60 y 85 °C, y entre 5 y 10 minutos.
- **Uso de aditivos:** principalmente nitratos, dióxido de titanio y cloruro de calcio.

Los 10 quesos Oaxaca industriales estudiados (Tabla 23) se eligieron de entre 32 marcas que se elaboran en diversas partes del país. La elección se llevó a cabo en función de la semejanza en características visuales y composición (similar) declarada en la etiqueta. Al igual que los quesos artesanales, presentan una composición química heterogénea. Sin embargo, a pesar de la variedad de ingredientes reportados en sus etiquetas (Tabla 24), los quesos industriales presentaron menor variabilidad que los quesos artesanales.

Tabla 23. Características fisicoquímicas de quesos Oaxaca industriales

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	NaCl	pH
	%				
Q11	53.90 ± 0.15 ^{cd}	14.54 ± 0.62 ^a	23.00 ± 0.01 ^f	2.17 ± 0.04 ^f	5.19 ± 0.03 ^a
Q12	49.97 ± 0.24 ^a	20.64 ± 0.32 ^{de}	21.50 ± 0.71 ^e	1.17 ± 0.08 ^a	5.26 ± 0.05 ^{ab}
Q13	51.99 ± 0.25 ^{abc}	23.78 ± 0.82 ^f	18.00 ± 0.01 ^{bc}	2.02 ± 0.13 ^{ef}	5.33 ± 0.03 ^{bc}
Q14	50.40 ± 0.76 ^{ab}	21.24 ± 0.61 ^e	22.75 ± 0.35 ^f	1.88 ± 0.16 ^{de}	5.38 ± 0.03 ^{cd}
Q15	51.47 ± 0.79 ^{abc}	18.59 ± 0.32 ^{bc}	24.25 ± 0.35 ^g	1.43 ± 0.04 ^b	5.61 ± 0.02 ^e
Q16	50.12 ± 0.04 ^{ab}	20.38 ± 0.60 ^{de}	25.00 ± 0.01 ^g	1.95 ± 0.06 ^{de}	5.76 ± 0.06 ^f
Q17	53.06 ± 0.04 ^{abc}	21.34 ± 0.51 ^e	14.00 ± 0.01 ^a	1.55 ± 0.04 ^{bc}	5.39 ± 0.04 ^{cd}
Q18	50.31 ± 0.01 ^{ab}	17.88 ± 0.33 ^b	20.00 ± 0.01 ^d	1.35 ± 0.08 ^{ab}	5.42 ± 0.04 ^d
Q19	56.39 ± 1.65 ^d	19.50 ± 0.31 ^{cd}	17.50 ± 0.71 ^b	1.49 ± 0.13 ^b	5.22 ± 0.03 ^a
Q110	53.13 ± 1.44 ^{bc}	22.79 ± 0.45 ^f	18.50 ± 0.71 ^c	1.74 ± 0.10 ^{cd}	5.34 ± 0.03 ^{cd}

a,b,c,...g superíndices diferentes entre filas indican diferencia significativa entre las medias de las muestras ($P \leq 0.05$) en la prueba LSD.

Tabla 24. Composición química y lista de ingredientes declarados en la etiqueta de los quesos industriales

Muestra	Ingredientes	Composición %		
		Humedad máximo	Grasa mínimo	Proteína mínimo
QI1	Leche descremada y pasteurizada de vaca, grasa vegetal, grasa butírica, proteína de leche, sal yodada, mono y diglicéridos, cloruro de calcio, goma guar, goma de algarrobo, sorbato de potasio, saborizante natural y cuajo.	50	21	21
QI2	Leche parcialmente descremada y pasteurizada de vaca, sal yodada, cloruro de calcio, cuajo, cultivos lácticos y natamicina.	51	20	22
QI3	Leche entera pasteurizada de vaca, sal yodada, dióxido de titanio, sorbato de potasio, goma guar, cloruro de calcio, cuajo, natamicina.	49	23	23
QI4	Leche entera pasteurizada de vaca, sal yodada, cloruro de calcio, cuajo, cultivos lácticos, y natamicina.	51	20	22
QI5	Leche parcialmente descremada, pasteurizada de vaca, sólidos de leche, sal yodada, cloruro de calcio, cuajo, cultivos lácticos, sorbato de potasio y natamicina.	52	18	19
QI6	Leche descremada reconstituida, grasas y/o aceites vegetales y/o animales parcialmente hidrogenados, sal yodada, caseinatos, cloruro de calcio, citrato de sodio, ácido cítrico, grasa butírica, sorbato de potasio, cuajo, extracto de annato y curcumina.	52	21	20
QI7	Leche parcialmente descremada, sal yodada, ácido cítrico, citrato de sodio, cloruro de calcio, enzima, sorbato de potasio y natamicina.	52	13	20
QI8	Leche parcialmente descremada pasteurizada de vaca, agua, sólidos lácteos, grasa vegetal, almidón modificado, sal yodada, cloruro de calcio, cuajo, sabor enzimático natural, cultivos lácticos.	51	19	18
QI9	Leche parcialmente descremada y pasteurizada de vaca, cloruro de sodio, proteína concentrada de leche, dióxido de titanio, cloruro de calcio y cuajo.	55	18	20
QI10	Leche semidescremada pasteurizada de vaca, sal yodada, cloruro de calcio y cuajo.	51	20	21

Entre los quesos industriales el contenido de humedad osciló entre 49.97 y 56.39%; el de proteína, entre 14.54 y 23.78%; el de grasa, entre 14 y 25%; el de sal, entre 1.17 y 2.17; y valores de 5.19 a 5.76 en el pH.

Al comparar los datos obtenidos de los análisis realizados (Tabla 23) con los reportados por los fabricantes (Tabla 24), se constata que solamente 4 marcas (QI2, QI4, QI5, y QI6) cumplen con los datos declarados en la etiqueta. Además, cabe destacar que la composición química declarada por los fabricantes no cumple con las especificaciones de la norma mexicana correspondiente.

En función de los resultados obtenidos del análisis de quesos Oaxaca, se observa que los componentes con mayor variación fueron los contenidos de humedad y grasa. Además del tiempo de acidificación que condiciona el tiempo de proceso, existen otros factores que afectan la composición química del queso Oaxaca. Arcos, (2017), estudió el tiempo y la temperatura de amasado sobre la supervivencia de bacterias coliformes. Encontró que a mayor tiempo y temperatura de amasado hay una mayor liberación de grasa y deshidratación de la cuajada. Las interacciones hidrófobas proteína-proteína se fortalecen con el aumento de la temperatura e inducen a la contracción de la red proteica, (Walstra, Wouters and Geurts, 2006; Nöbel, Weidendorfer and Hinrichs, 2012); además, a mayor tiempo de manipulación de la cuajada durante el amasado se favorece la liberación de grasa ya que no existe una interacción química proteína-grasa. En función de las observaciones realizadas en los talleres de elaboración de queso Oaxaca artesanal, se puede inferir que no se tienen procesos estandarizados, de tal manera que las temperaturas y tiempos de amasado son variables, lo cual conduce a la obtención de quesos con una composición química heterogénea.

El contenido de sal es el tercer componente en presentar variaciones significativas. En el queso Oaxaca la sal, normalmente, se aplica directamente sobre la superficie del queso una vez que se han formado las hebras y justo antes de comenzar a formar las madejas. A medida que la sal penetra el queso, la humedad migra hacia afuera a un ritmo más rápido que el movimiento interno de la sal. En consecuencia, la humedad del queso se pierde más rápidamente, lo que da como resultado una pérdida neta en el peso del queso. La adición de sal en los quesos artesanales, normalmente se hace de forma empírica, a criterio del productor, de tal modo que la cantidad puede variar en cada lote. Se asume que en los quesos industriales hay un control sobre la cantidad de sal adicionada y depende de cómo se ha desarrollado la formulación inicial.

Así, se puede apreciar que tanto los quesos artesanales como los industriales mostraron diferencias significativas en cuanto a su composición ya sea entre productores, zonas de elaboración o marcas. Esto coincide con estudios realizados previamente en los que se ha reportado que las características fisicoquímicas del queso Oaxaca son heterogéneas, ya sea

queso artesanal (Montes de Oca-Flores *et al.*, 2009; Villanueva-Carvajal *et al.*, 2012) o industrial (Aceves, 2013).

3.2. Proteólisis en los quesos Oaxaca experimentales

La proteólisis es el principal proceso que ocurre durante la maduración del queso, se realiza mediante la acción de enzimas propias de la leche, del cultivo láctico y del agente coagulante. En el queso Oaxaca experimental se llevó a cabo degradación de proteína durante el almacenamiento (Figuras 11 y 12) en la cual se observan diferencias en función del tipo de queso.

La técnica de N₂ soluble (NS) en solución amortiguadora de acetato pH 4.6 permite medir la proteólisis primaria, es decir, los péptidos de mediano y bajo peso molecular (menores a 2000 daltons (Lau *et al.*, 1991; Upadhyay *et al.*,2004).

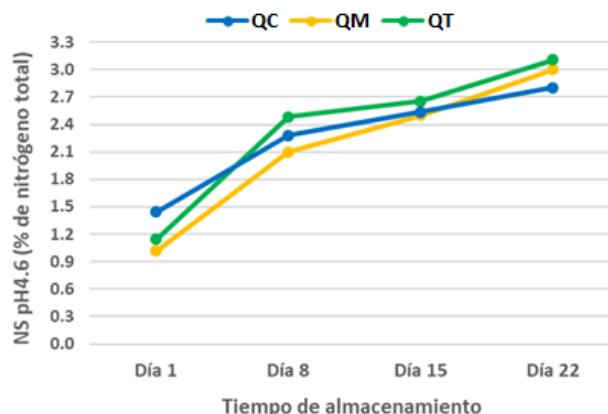


Figura 11. Evolución del NS (pH 4.6) durante el almacenamiento de queso Oaxaca obtenido con cultivo láctico termofílico (QT), mesofílico (QM) y leche cruda (QC), expresado como g por 100 g de queso.

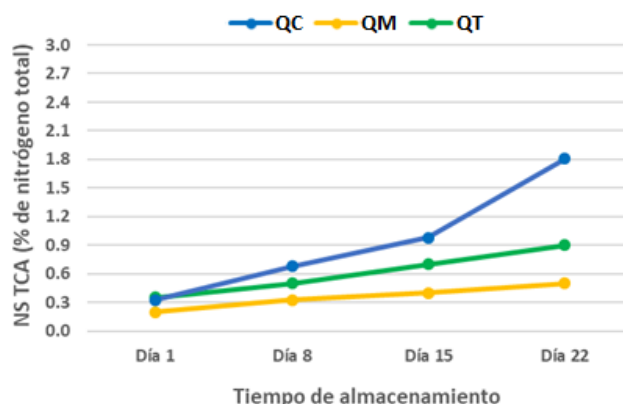


Figura 12. Evolución del NS (TCA) durante el almacenamiento de queso Oaxaca obtenido con cultivo láctico termofílico (QT), mesofílico (QM) y leche cruda (QC), expresado como g por 100 g de queso.

Al día siguiente de la elaboración del queso, el grado de proteólisis primaria de las caseínas es apreciable y corresponde a la hidrólisis de las caseínas durante el proceso, por acción de la plasmina (resistente a la pasteurización) sobre la caseína β , del agente coagulante (quimosina remanente) sobre la caseína α_1 , y de la lactocepina, que hidroliza los péptidos largos liberados por la plasmina y la quimosina (Sousa *et al.*, 2001; Upadhyay *et al.*, 2004).

Durante el almacenamiento, la proteólisis primaria aumenta de forma semejante en los tres quesos, sin que se hayan observado diferencias significativas.

El NS en TCA al 12 % mide la cantidad de péptidos de bajo peso molecular y de aminoácidos presentes en el queso (Lau *et al.*, 1991), es decir, el nitrógeno no proteico (Farkye *et al.*, 1991). Se obtuvieron diferencias significativas entre quesos. La mayor proteólisis secundaria se presentó en el queso QC, lo cual se puede atribuir a la acción de una mayor variedad de enzimas provenientes de la microbiota presente en la leche cruda. En el queso QT también hay una proteólisis secundaria apreciable, que puede tener su origen en que este queso era el más húmedo. La menor proteólisis se encontró en el queso QM. La evolución de la proteólisis durante el almacenamiento se correlaciona de forma positiva con parámetros de textura y atributos sensoriales, como se verá más adelante.

Para su crecimiento, las BAL necesitan de aminoácidos libres, los cuales se encuentran en forma limitada en la leche. Estos microorganismos poseen un sistema complejo de proteasas intracelulares, que son liberadas una vez que se lisan (Savijoki *et al.*, 2006). Cuando se lisan, las BAL liberan endopeptidasas, aminopeptidasas, diversas proteasas específicas de la prolina, dipeptidasas que van a continuar la proteólisis iniciada por la plasmina, quimosina y lactocepina, para liberar péptidos de menor peso molecular y aminoácidos libres, que son los componentes nitrogenados que representan la proteólisis secundaria (Sousa *et al.*, 2001).

3.3. Microbiota presente en los quesos estudiados

Los microorganismos son un componente esencial en todas las variedades de queso y desempeñan un rol importante durante su manufactura y maduración. El proceso de fabricación del queso define las condiciones de desarrollo de la microbiota. Estas condiciones son altamente selectivas y ejercen un gran impacto en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos durante el almacenamiento y la maduración (Beresford *et al.*, 2001). La población microbiana del queso depende de la calidad de la leche, la posible contaminación durante el proceso y tipo de queso.

La microbiota encontrada en los quesos Oaxaca experimentales durante su almacenamiento se presentan en la Tabla 25. Se observa que predominan las BAL (lactobacilos y estreptococos), seguidas de los psicótrofos, mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales, y finalmente los microorganismos patógenos (*S. aureus* y *E. coli*)

El queso elaborado con leche cruda (QC) presentó mayor concentración de psicrótrofos, mesófilos, coliformes y patógenos respecto a los quesos QM y QT que fueron elaborados con leche pasteurizada e inoculados con lactococos y estreptococos respectivamente.

Durante el almacenamiento de los quesos en refrigeración (Tabla 25) se observa que la población de psicrótrofos aumenta, mientras que el resto de los géneros bacterianos disminuye. Resultados semejantes ya han sido reportados en queso Oaxaca durante el almacenamiento (Alva, 2014; González, 2014; Castro, 2013). La población de bacterias psicrótrofas aumenta porque su característica es poder crecer a temperaturas de refrigeración; mientras que las otras poblaciones microbianas (BAL, mesófilos, coliformes, estafilococos) mueren progresivamente debido a diversos factores: la temperatura, el agotamiento de lactosa, el aumento de la acidez, entre otros.

En los quesos de pasta hilada, la población de mesófilos aerobios en el día de elaboración suelen ser bajos (10^6 UFC/g) en comparación con los hallados en otros quesos, debido al efecto termostático del malaxado (Kindstedt, 1993), que implica un calentamiento de la cuajada durante varios minutos a temperaturas normalmente comprendidas entre 60 y 80°C. No obstante, una cantidad considerable de microorganismos mesófilos (termodúricos) y termófilos presentes en la cuajada antes del malaxado sobreviven y soportan el tratamiento térmico que lleva implícito este proceso (Jana and Mandal, 2011).

Los cultivos lácticos agregados al inicio del proceso de elaboración de los quesos pueden alcanzar rápidamente altas poblaciones entre 10^9 a 10^{10} UFC/g de queso (Montel *et al.*, 2014). En el queso Oaxaca, la actividad principal de los cultivos lácticos es la producción de ácido láctico, aunque también son las responsables de llevar a cabo la proteólisis y la formación de compuestos aromáticos durante el almacenamiento (Fox y Wallace, 1997).

En los quesos están presentes bacterias lácticas no inoculadas (NSLAB) que corresponden a BAL que escaparon a la pasteurización (termorresistentes) o bien que se incorporan del medio ambiente al proceso. Estas BAL no crecen durante el proceso de acidificación de la leche y, por lo tanto, no contribuyen de forma importante a la producción de ácido. Sin embargo, se desarrollan en el interior de los quesos (Beresford *et al.*, 2001; Montel *et al.*, 2014), alcanzando niveles de 10^8 UFC/g de queso durante su maduración o almacenamiento, por lo que algunos autores indican que esta microbiota juega un papel muy importante durante la maduración del queso, siendo los principales responsables de la formación de compuestos aromáticos en esta etapa (Ross *et al.*, 2000; Beresford *et al.*, 2001). En la maduración las NSLAB constituyen la microbiota más abundante debido a que son capaces de crecer a pH bajo, en presencia de altas cantidades de NaCl, en anaerobiosis y sin la presencia de carbohidratos fermentables (Montel *et al.*, 2014).

Tabla 25. Poblaciones microbianas presentes en quesos Oaxaca experimentales durante el almacenamiento

Microorganismo	Queso	Días de almacenamiento			
		1	8	15	22
Lactobacilos (UFC/g x 10 ⁶)	QC	33.5	26.5	19	16
	QM	340	240	170	140
	QT	320	220	120	104
Esteptococos (UFC/g x 10 ⁶)	QC	350	315	215	137.5
	QM	190	140	130	55
	QT	622.5	478	377.5	231.75
Psicrótrofos (UFC/g x 10 ⁵)	QC	5	15	25	35
	QM	<10 ⁵	<10 ⁵	1.28	2.1
	QT	<10 ⁵	<10 ⁵	1.78	2.6
Mesófilos (UFC/g x 10 ⁶)	QC	51.5	49.9	46.6	32.1
	QM	4.05	3.55	2.6	2.21
	QT	4.95	4.45	4.1	3.21
Coliformes T (UFC/g x 10 ³)	QC	340	205	176	62
	QM	24.25	17.5	12.75	9.4
	QT	57.5	27	23	4.5
Coliformes F (NMP/g x 10 ³)	QC	77	70	44.6	19.5
	QM	3.2	2.7	1.6	1.2
	QT	4	2.4	1.7	1.1
<i>S. aureus</i> (UFC/g x 10 ³)	QC	27.4	23	7	4
	QM	<10 ³	<10 ³	<10 ³	<10 ³
	QT	<10 ³	<10 ³	<10 ³	<10 ³
<i>E. coli</i> (Presencia)	QC	+	+	+	+
	QM	-	-	-	-
	QT	-	-	-	-

Saxer *et al.* (2013) encontraron que las BAL fueron el grupo microbiano dominante en el queso Oaxaca, con un claro predominio de los lactococos sobre los lactobacilos. El predominio de lactococos sobre lactobacilos ha sido también descrito en queso Mozzarella (Conte *et al.*, 2007; Yazici *et al.*, 2010). En el queso argentino de pasta hilada no madurado llamado Quesillo, Oliszewsky *et al.* (2007) encontraron que los recuentos en MRS y M17 fueron similares y que ambos disminuyeron con el tiempo de almacenamiento.

En un estudio sobre queso Oaxaca elaborado con leche cruda Caro *et al.* (2013) encontraron poblaciones de coliformes más altas (6 log UFC/g) que en este estudio. Estos microorganismos se utilizan como índice de higiene en los quesos (Ganesan *et al.*, 2012) y se relacionan con contaminación fecal. La presencia de cantidades elevadas de los mismos en los quesos estudiados se puede atribuir a deficiencias en la higiene en el ordeño y manipulación de la leche (Zarate *et al.*, 1997). Estos recuentos elevados podrían tener repercusión sobre la vida

útil de los quesos, porque los coliformes son considerados una de las bacterias alterantes más importantes en quesos como el Mozzarella (Altieri *et al.*, 2005; De Angelis *et al.*, 2008). Los coliformes son sensibles a valores de pH bajos y son afectados por el crecimiento de BAL (De Angelis *et al.*, 2008; Moschopoulou *et al.*, 2010). Esto explicaría la disminución en los recuentos de coliformes observada a partir del día 8 de almacenamiento.

Las poblaciones microbianas encontradas en los quesos artesanales (Tabla 26) son mayores que en los quesos experimentales, incluso que en el queso QC que también fue elaborado con leche cruda. A pesar de que existe mucha variabilidad en las poblaciones, es evidente que los quesos de Aculco presentaron una mayor concentración de microorganismos que los quesos de Tulancingo y Oaxaca, siendo estos últimos los que presentaron las concentraciones más bajas. Una alta cantidad de BAL puede ser benéfica para acelerar los procesos de producción y obtener ciertas características deseadas en el queso y, la presencia de altas cuentas de coliformes y microorganismos patógenos pone en evidencia una deficiente calidad higiénica que puede comprometer la inocuidad del producto final.

La población microbiana en los quesos industriales (Tabla 27) es menor que la de los quesos artesanales, en los diferentes géneros es menor de 1 a 2 ciclos logarítmicos. Esta reducción es debida al proceso de pasteurización y la adición de conservadores, como la natamicina. Con estos procedimientos, se podría esperar una mejor calidad sanitaria en los quesos industriales; sin embargo, se evidenció que, a pesar de usar leche pasteurizada, las poblaciones de microorganismos indicadores y patógenos superan las especificaciones de la norma.

Tabla 26. Poblaciones microbianas presentes en queso Oaxaca artesanal

Queso	Lactobacilos	Estreptococos (UFC/g x 10 ⁶)	Mesófilos	Psicrótrofos	Coliformes T (UFC/g x 10 ³)	<i>S. aureus</i>	Coliformes F NMP/g x 10 ³	<i>E. coli</i> Presencia
QR1	160	302	1.1	63	351.2	>24,000	108	+
QR2	98	17	27.2	128	114	0	46.8	-
QR3	90	262	26.9	6	52.8	>24,000	76	+
QR4	11	28	57	12	110	>24,000	86	+
QR5	10	16	<10 ³	5	283.2	>24,000	50.8	+
QA1	617	1727	5.9	815	320.8	>24,000	139.9	+
QA2	316	740	336.8	547.5	197.7	>24,000	126.8	+
QA3	292	262	47.6	87.5	529.6	>24,000	339.7	+
QA4	397.4	2611	<10 ³	540	717.2	>24,000	328	+
QA5	304.5	1150	37.4	587.5	672	>24,000	189.8	+
QT1	260.4	608.2	77.5	0.16	55	>24,000	15	+
QT2	294.6	406.4	261.6	51.1	582.4	>24,000	356.8	+
QT3	239.6	506.8	116.6	60.8	355.6	>24,000	304	+
QT4	432.2	256.7	41.04	81.4	285	>24,000	772.8	+
QT5	570.4	979.2	172.8	100.1	103.6	>24,000	120.3	+

Tabla 27. Poblaciones microbianas presentes en queso Oaxaca industrial

Queso	Lactobacilos	Estreptococos UFC/g x 10 ⁶	Mesófilos	Psicrótrofos	Coliformes T UFC/g x 10 ³	<i>S. aureus</i>	Coliformes F NMP/g x 10 ³	<i>E. coli</i> Presencia
QI1	34	194	8.2	412	3.4	32	3	-
QI2	0.1	0.1	0.02	1	7.5	5.7	3	-
QI3	32.2	102.2	9.9	760	1.1	15.1	3	-
QI4	7	33	0.1	<10 ³	105	5.8	3	-
QI5	110	136	0.05	<10 ³	5.5	4.9	3	-
QI6	15.4	55.6	0.07	<10 ³	87.2	36	3	-
QI7	0.7	0.01	0.8	20	3.4	25	3	-
QI8	188	291.2	5.4	550	5.7	11.6	3	-
QI9	10	6	15.8	1230	99	26.8	93	+
QI10	282	755	25.2	3340	60	36.4	2400	+

La norma mexicana NOM-243-SSA1-2010 establece las especificaciones sanitarias que deben cumplir los quesos frescos y madurados (Tabla 28), aplicable al queso Oaxaca (queso fresco).

Tabla 28. Especificaciones microbiológicas para el Queso Oaxaca de acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010

Microorganismo	Límite máximo
Coliformes totales	≤ 100 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000 UFC/g
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25 g
<i>Escherichia coli</i>	100 UFC/g
Mesófilos aerobios	100 000 UFC/g
Mohos y levaduras	500 UFC/g

En el aspecto microbiológico ninguno de los quesos analizados cumple con la norma correspondiente. Sin embargo, se observa que en los quesos QM y QT se aproximan al cumplimiento, así como los quesos industriales, lo que demuestra que la pasteurización mejora la calidad microbiológica.

3.4. Propiedades físicas de los quesos

3.4.1. Textura

En términos físicos, el queso es un material viscoelástico y todas sus características estructurales se traducen en una combinación de propiedades reológicas medibles (Steffe *et al.*, 1996). La estructura del queso y por tanto su textura cambia con el tiempo de almacenamiento debido a diversos fenómenos como la proteólisis, el descenso de humedad, el cambio de pH, la captación de sal o la hidratación de proteínas (Akkerman *et al.*, 1989; Luyten *et al.*, 1991; Luyten y van Vliet, 1996; Zoon y Allersman, 1996).

Los parámetros de textura determinados en los quesos experimentales mediante un análisis de perfil de textura (TPA) se muestran en la tabla 29. Los atributos considerados fueron: firmeza, adhesividad, cohesividad, gomosidad y elasticidad. Se reportan, además los cambios que sufren estos parámetros durante el almacenamiento en refrigeración.

El queso QM fue el que presentó mayor firmeza y menor adhesividad. En contraste, el queso QT presentó menor firmeza y mayor adhesividad, mientras que en el queso QC se registraron valores intermedios entre los dos quesos anteriores.

De manera general, la firmeza, elasticidad y cohesividad descendieron en los tres quesos a lo largo del almacenamiento. Los valores de firmeza oscilaron entre 167.10 y 253.33 N en los quesos recién elaborados, mientras que al final del almacenamiento estos valores se redujeron a niveles de entre 81.56 y 136.31N. Estos cambios comenzaron a ser significativos ($P < 0,05$) a

partir del día 8, incrementándose a lo largo del tiempo. En contraste, la adhesividad mostró un progresivo aumento en los tres quesos.

Tabla 29. Parámetros de textura en los quesos experimentales obtenidos mediante análisis de perfil de textura (TPA)

Atributo	Muestra	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22
Firmeza (N)	QC	179.65 ± 90.05a ¹	161.98 ± 16.89ab ¹	110.91 ± 8.79bc ¹	100.20 ± 11.31c ¹
	QM	253.33 ± 39.61a ²	211.08 ± 37.48ab ²	180.37 ± 62.84bc ²	136.31 ± 26.79c ²
	QT	167.10 ± 27.44a ¹	147.16 ± 36.20a ¹	94.28 ± 19.06b ¹	81.56 ± 31.76b ¹
Adhesividad (N)	QC	-0.41 ± 0.13a ¹	-0.36 ± 0.14a ¹	-1.03 ± 0.45a ¹	-4.46 ± 1.85b ¹²
	QM	-0.48 ± 0.09a ¹	-1.36 ± 1.14ab ¹	-1.97 ± 0.95b ¹	-3.03 ± 0.61c ²
	QT	-2.75 ± 0.55a ²	-3.74 ± 1.57a ²	-5.31 ± 1.14b ²	-5.74 ± 0.94b ¹
Cohesividad	QC	0.44 ± 0.01a ¹	0.26 ± 0.14b ¹²	0.15 ± 0.12bc ¹	0.10 ± 0.01c ¹
	QM	0.36 ± 0.17a ¹²	0.35 ± 0.02a ²	0.29 ± 0.13a ²	0.24 ± 0.08a ²
	QT	0.29 ± 0.10a ²	0.17 ± 0.07b ¹	0.12 ± 0.04bc ¹	0.08 ± 0.05c ¹
Gomosidad (N)	QC	29.27 ± 7.16a ²	23.26 ± 2.99a ²	16.62 ± 6.36b ¹²	11.17 ± 1.86b ¹
	QM	46.65 ± 4.14a ³	43.26 ± 1.50a ³	27.78 ± 16.32b ²	23.10 ± 7.49b ²
	QT	17.90 ± 8.04a ¹	12.65 ± 7.97ab ¹	6.60 ± 10.39b ¹	6.32 ± 1.70b ¹
Elasticidad	QC	0.44 ± 0.04a ²	0.38 ± 0.03b ²	0.32 ± 0.02c ²	0.26 ± 0.03d ²
	QM	0.51 ± 0.03a ²	0.49 ± 0.02a ³	0.45 ± 0.05b ³	0.39 ± 0.05c ³
	QT	0.41 ± 0.05a ¹	0.31 ± 0.06b ¹	0.25 ± 0.06bc ¹	0.16 ± 0.13c ¹

Los subíndices (a, b, c) diferentes entre columnas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los valores del atributo de textura respecto al tiempo.

Los superíndices (1,2,3) diferentes entre filas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los valores del atributo de textura respecto al tipo de queso.

En el día uno de elaboración, el queso QT presenta diferencia significativa ($P < 0,05$) en cuanto adhesividad, gomosidad y elasticidad respecto a los otros dos quesos y esta diferencia se acentúa conforme avanza el tiempo de almacenamiento, se puede decir, que es este queso el que presenta más cambios en el tiempo, mientras que el queso QM es en el que se mantienen de manera más homogénea los parámetros de textura.

Caro *et al.* (2014) evaluaron la textura mediante TPA de seis quesos mexicanos tradicionales (entre ellos Oaxaca), encontraron valores menores a los del presente estudio: 15 N para la fuerza, 0.7 de elasticidad y 0.60 de cohesividad. Cabe destacar, que el TPA es una técnica que puede generar datos con alta variabilidad, pues existen varios factores que afectan la determinación, como son: el origen del queso, el día en que se realizó el análisis después de su elaboración, la manipulación de las muestras y las condiciones de medida empleadas (tamaño de la muestra, fuerza de compresión, etc.).

Por otro lado, Caro *et al.* (2011) han descrito cómo la composición de la leche afectó al perfil de textura del queso, de forma que los valores de firmeza y elasticidad aumentaron y los de adhesividad disminuyeron cuando el queso tenía menos grasa. Respecto al queso Mozzarella, diversos estudios han mostrado que el perfil de textura estuvo relacionado con varios factores entre los que cabe señalar la humedad (Yun *et al.*, 1993), las interacciones proteína-proteína debidas al calcio (Metzger *et al.*, 2001), la cantidad de grasa, así como el tamaño y la distribución de las gotitas de lípidos (Van Hekken *et al.*, 2007).

Respecto a la evolución de la textura con el tiempo de almacenamiento, en concordancia con lo observado en el presente estudio, otros trabajos sobre el queso Mozzarella también describen el descenso en los valores de dureza, elasticidad y cohesividad (Effendi *et al.*, 1992; Tunick *et al.*, 1991; Rudan *et al.*, 1999; Imm *et al.*, 2003). Estos cambios indican una transformación progresiva en la estructura proteica, de forma tal que el queso va cambiando de una textura más sólida a una más fluida y viscosa (Kindstedt, 1993). Estos cambios provocan que las propiedades funcionales de fibrosidad y desmenuzado vayan disminuyendo, haciendo que el queso se torne más blando.

Kindsted (1993) relaciona claramente el decremento de la firmeza y de los otros parámetros durante el almacenamiento con la actividad proteasa desarrollada en el queso, es decir dependerá del grado de proteólisis que se dé durante el almacenamiento. Otro factor a tener en cuenta en los cambios de la textura del queso es el descenso de pH. Flourey *et al.* (2009) explican que el papel del pH en la textura del queso es particularmente importante, porque los cambios en el pH están directamente relacionados con los cambios químicos en la estructura de las micelas de caseína. Estos autores describen cómo un menor pH en el queso trae consigo una menor firmeza y elasticidad. Estos cambios se relacionan con una mayor liberación de Ca^+ y P^- de la micela, así como a una reducción de las cargas negativas de las caseínas a menor pH (Dalglish y Law, 1989; Watkinson *et al.*, 2001). Otra causa posible del ablandamiento y pérdida de elasticidad sería el aumento en el grado de hidratación de las caseínas, que se incrementa con el tiempo (Lucey y Fox, 1993; Luyten y van Vliet, 1996; McMahon *et al.*, 1999).

McMahon *et al.* (2005) y Paulson *et al.* (1998) describieron que con el tiempo se incrementaba la adhesividad de los quesos. Esto mismo se ha observado en el queso Oaxaca. Esos autores atribuyen este cambio en la adhesividad al descenso de pH que, a su vez, reduce el contenido de Ca^+ en las micelas. De esta manera, las proteínas se desdoblan y sus grupos funcionales están más disponibles para interactuar con otras superficies. La proteína con menor contenido de Ca^+ presenta más sitios hidrófobos que pueden impartir un mayor grado de flexibilidad y facilidad de interacción con las superficies.

El perfil de textura (TPA) de los quesos Oaxaca artesanales se aprecia en la Tabla 30. Los quesos con mayor firmeza son los elaborados en Oaxaca, seguidos de los de Tulancingo y finalmente los de Aculco.

Tabla 30. Parámetros de textura en quesos artesanales obtenidos mediante Análisis de perfil de textura (TPA).

Muestra	Firmeza (N)	Adhesividad (N)	Cohesividad	Gomosidad	Elasticidad
QR1	361.85 ± 88.93 ^{fg}	-16.10 ± 1.87 ^a	0.22 ± 0.06 ^{ab}	71.62 ± 10.65 ^f	0.28 ± 0.06 ^{ab}
QR2	269.77 ± 44.96 ^{de}	-3.73 ± 0.13 ^{def}	0.22 ± 0.03 ^{ab}	57.99 ± 10.60 ^e	0.32 ± 0.03 ^{bc}
QR3	378.45 ± 104.58 ^g	-5.19 ± 0.72 ^{bcd}	0.24 ± 0.03 ^{bc}	117.89 ± 10.23 ^h	0.38 ± 0.05 ^d
QR4	308.58 ± 159.00 ^{ef}	-5.57 ± 1.29 ^{bc}	0.29 ± 0.10 ^{cde}	50.90 ± 13.82 ^{de}	0.34 ± 0.04 ^{cd}
QR5	226.39 ± 30.86 ^{cd}	-5.14 ± 1.15 ^{bcd}	0.29 ± 0.04 ^{cde}	53.08 ± 8.27 ^{de}	0.44 ± 0.06 ^e
QA1	69.43 ± 13.03 ^a	-3.71 ± 1.80 ^{def}	0.24 ± 0.07 ^{ab}	18.45 ± 4.13 ^a	0.27 ± 0.03 ^a
QA2	209.30 ± 47.04 ^{cd}	-16.21 ± 3.41 ^a	0.18 ± 0.06 ^a	42.53 ± 11.51 ^{cd}	0.25 ± 0.06 ^a
QA3	110.60 ± 19.42 ^{ab}	-3.14 ± 2.17 ^{efg}	0.30 ± 0.02 ^{de}	31.88 ± 3.15 ^{bc}	0.43 ± 0.04 ^e
QA4	108.66 ± 25.38 ^{ab}	-4.16 ± 1.63 ^{cde}	0.26 ± 0.02 ^{bcd}	28.12 ± 5.18 ^{ab}	0.35 ± 0.02 ^{cd}
QA5	119.35 ± 8.29 ^{ab}	-3.85 ± 1.25 ^{cdef}	0.31 ± 0.01 ^{de}	36.85 ± 1.13 ^{bc}	0.38 ± 0.03 ^d
QT1	177.20 ± 25.72 ^{bc}	-6.41 ± 1.57 ^b	0.32 ± 0.05 ^{ef}	57.55 ± 12.66 ^e	0.36 ± 0.04 ^{cd}
QT2	172.66 ± 44.32 ^{bc}	-4.71 ± 0.79 ^{bcdde}	0.31 ± 0.02 ^{ef}	55.30 ± 10.34 ^e	0.38 ± 0.03 ^d
QT3	161.53 ± 15.59 ^{bc}	-3.21 ± 0.73 ^{efg}	0.33 ± 0.01 ^{ef}	54.81 ± 4.92 ^e	0.45 ± 0.01 ^e
QT4	212.59 ± 27.59 ^{cd}	-1.63 ± 0.38 ^g	0.36 ± 0.06 ^f	60.27 ± 15.21 ^e	0.51 ± 0.06 ^f
QT5	193.09 ± 32.43 ^{cd}	-2.32 ± 0.91 ^{fg}	0.45 ± 0.02 ^g	82.78 ± 5.64 ^g	0.53 ± 0.05 ^f

Los superíndices (a,b,c) diferentes entre filas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los valores del atributo de textura respecto al tipo de queso.

La mayor firmeza de los quesos de Oaxaca se puede explicar por la forma de acidificación: la cuajada se separa del lactosuero inmediatamente después de cortarla, se coloca en un recipiente y se permite acidificar, lo cual puede durar de 12 a 36 horas. Este tiempo de acidificación tan prolongado se debe a que la leche se coagula justo después de ordeñar, cuando la población de BAL es muy baja. Durante este tiempo se elimina más lactosuero de la cuajada y el queso es menos húmedo y por tanto es más firme. En Tulancingo y Aculco se parte de leche con cierta acidez y la acidificación de la cuajada se lleva a cabo en el lactosuero. En función de la acidez inicial la acidificación puede ser muy corta (<3 h), lo cual no permite que haya suficiente exudación de lactosuero, resultando en quesos más húmedos. El menor valor de firmeza en los quesos de Aculco se debe a que estos fueron los que presentaron mayores valores de humedad, así como menor contenido de proteína y grasa.

Los parámetros de textura de los quesos Oaxaca industriales también presentan variaciones (Tabla 31), aunque son menores que en los quesos artesanales.

Tabla 31. Parámetros de textura obtenidos mediante Análisis de perfil de textura (TPA) en los quesos industriales.

Muestra	Firmeza (N)	Adhesividad (N)	Cohesividad	Gomosidad	Elasticidad
QI1	108.62 ± 10.62 ^a	-3.93 ± 0.97 ^b	0.18 ± 0.05 ^{ab}	20.11 ± 6.96 ^a	0.27 ± 0.03 ^a
QI2	249.57 ± 16.46 ^d	-11.71 ± 1.82 ^b	0.31 ± 0.04 ^{cd}	77.31 ± 15.4 ^{de}	0.38 ± 0.05 ^b
QI3	211.54 ± 24.31 ^c	-0.5 ± 0.23 ^b	0.37 ± 0.04 ^d	83.79 ± 13.1 ^e	0.58 ± 0.04 ^f
QI4	337.07 ± 36.33 ^e	-11.45 ± 2.18 ^b	0.08 ± 0.10 ^a	66.51 ± 25.9 ^{de}	0.45 ± 0.04 ^{cd}
QI5	116.33 ± 36.25 ^a	-4.55 ± 1.69 ^b	0.08 ± 0.10 ^a	34.87 ± 15.93 ^{ab}	0.43 ± 0.01 ^{bcd}
QI6	258.12 ± 33.95 ^d	-1.09 ± 0.34 ^b	0.22 ± 0.12 ^{bc}	60.62 ± 29.53 ^{cd}	0.58 ± 0.08 ^f
QI7	163.36 ± 32.66 ^b	-42.43 ± 32.64 ^a	0.36 ± 0.10 ^d	43.82 ± 21.33 ^{bc}	0.42 ± 0.02 ^{bcd}
QI8	133.26 ± 35.23 ^{ab}	-5.95 ± 1.043 ^b	0.33 ± 0.15 ^d	43.39 ± 12.03 ^{bc}	0.40 ± 0.02 ^{bc}
QI9	161.14 ± 17.44 ^b	-1.62 ± 0.741 ^b	0.36 ± 0.03 ^d	57.20 ± 15.94 ^{cd}	0.51 ± 0.05 ^e
QI10	160.9 ± 10.62 ^b	-2.57 ± 0.89 ^b	0.32 ± 0.06 ^{cd}	67.30 ± 18.36 ^{de}	0.47 ± 0.05 ^{de}

Los superíndices (a,b,c) diferentes entre filas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los valores del atributo de textura respecto al tipo de queso.

Dentro del grupo de quesos industriales, aquellos que fueron elaborados con leche entera y/o sin la adición de sólidos de leche, gomas o almidones (QI4, QI2, QI3) fueron los que presentaron mayor firmeza y menor adhesividad. Asimismo, los quesos en los que se adicionó grasa vegetal presentaron una menor firmeza. Este comportamiento puede indicar que, tras la pasteurización, el tipo y contenido de grasa juegan un papel importante en la conformación de la textura final.

El LSD mostró que el atributo con mayor variabilidad en los quesos industriales fue la elasticidad. Este parámetro se correlacionó positivamente con el contenido de proteína ($r^2=0.72$), por lo que se puede asumir que, a mayor contenido de proteína, el queso será más elástico.

3.4.2. Color

El color es otra propiedad de los quesos sujeto a cambios durante el almacenamiento. Una de las causas más referidas en la bibliografía del cambio de color es la oxidación de la grasa que trae consigo la pérdida de color amarillo, además de una modificación negativa en el sabor (Juric *et al.*, 2003; Mortensen *et al.*, 2004). Esta oxidación viene dada por la exposición del queso a la luz (generalmente se produce una fotooxidación catalizada por la riboflavina) y está favorecida por el contacto con el oxígeno (Belestrieri *et al.*, 2002; Dalsgaard *et al.*, 2010). Por otra parte, el periodo de almacenamiento influye sobre el pardeamiento que tiene lugar en el queso durante el horneado, en su preparación culinaria (pizzas, gratinados, etc.) (Kinstedt, 1993). Con el tiempo de almacenamiento normalmente disminuye la coloración marrón del queso horneado, pues disminuye la cantidad de azúcares simples. Sin embargo, también la coloración puede verse aumentada cuando durante la maduración aumentan los otros

sustratos de la reacción de Maillard (moléculas con grupos amino libres). Todo depende de qué factor sea el predominante.

En la Tabla 32 se indican los parámetros de color (escala CIE: L, a, b e índice de blancura (IB)) determinados en los quesos experimentales durante su almacenamiento. La combinación de las coordenadas cromáticas indica que los quesos tienen tonalidades de amarillo pálido que corresponden a las del Pantone 1025 C. El queso con mayor índice de blancura fue el QC cuyo contenido de grasa y proteína es menor (a pesar de que no hay diferencias significativas entre quesos).

Tabla 32. Parámetros de color en los quesos experimentales y cambios durante el almacenamiento

Atributo	Muestra	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22
Luminosidad	QC	92.56±0.14a ²	91.54±0.35b ²	91.42±0.40b ²	90.53±0.50c ²
	QM	91.57±0.14a ¹	91.37±0.66a ²	91.25±0.19a ²	91.07±0.34a ²
	QT	90.84±0.82a ¹	90.25±0.20ab ¹	89.38±0.61b ¹	89.32±0.35b ¹
Coordenada cromática a	QC	-4.10±0.19b ²	-4.46±0.09a ³	-4.19±0.10ab ²	-4.44±0.22a ²
	QM	-4.44±0.08b ¹	-4.68±0.03a ²	-4.31±0.06c ²	-4.20±0.04c ²
	QT	-4.50±0.08a ¹	-5.31±0.12b ¹	-5.24±0.09b ¹	-5.04±0.33b ¹
Coordenada cromática b	QC	18.40±0.75a ¹	20.34±0.16c ²	19.48±0.28b ¹	19.97±0.22bc ¹
	QM	18.84±0.36a ¹	19.11±0.22a ¹	19.01±0.18a ¹	19.18±0.33a ¹
	QT	18.75±0.33a ¹	20.75±0.54b ²	22.42±1.81b ²	21.23±0.85b ²
Índice de blancura	QC	79.73±0.68c ¹	77.52±0.18ab ²	78.30±0.42b ²	77.45±0.22a ²
	QM	78.80±0.61a ¹	78.59±0.22a ³	78.55±0.04a ²	78.50±0.26a ³
	QT	78.64±0.61b ¹	76.06±0.63a ¹	74.98±1.65a ¹	75.72±0.65a ¹

Las letras (a, b, c) diferentes entre columnas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los parámetros de color respecto al tiempo.

Los superíndices (1,2,3) diferentes entre filas indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los parámetros de color respecto al tipo de queso.

Los valores de los índices del color obtenidos en los quesos Oaxaca recién elaborados coinciden con los reportados por Caro *et al.* (2014) en 11 quesos Oaxaca artesanales del Estado de Hidalgo.

El color de los quesos es la consecuencia de la reflexión, absorción y transmisión de la luz que incide sobre los mismos. De forma importante, el color del queso viene dado por el color de la leche y la cantidad de grasa (Carpino *et al.*, 2004). Adicionalmente, la estructura física de la matriz proteica y de los glóbulos grasos afectan también al color (Rudan *et al.*, 1999). De esta forma, el color del queso es en cierta manera específico para cada variedad de queso (Kaya, 2002). Los valores de L, a y b encontrados en tres quesos frescos o de corta maduración fueron, respectivamente los siguientes: 86, -9 y 24 para queso Mozzarella de baja humedad (Sheehan *et al.*, 2005); 84, -8 y 27 para queso Havarti (Kristensen *et al.*, 2000) y 81, -8 y 29 para queso Samsø (Juric *et al.*, 2003). Los valores encontrados en estos quesos son muy diferentes a los

del queso Oaxaca, que mostró valores en torno a -4. No obstante, Rudan *et al.* (1998) encontraron valores de a positivos, cercanos a 1, en queso Mozzarella bajo en grasa. Los valores de los índices del color obtenidos en el queso Oaxaca recién elaborado coinciden con los reportados sobre 11 quesos Oaxaca de productores artesanales (Caro *et al.*, 2014).

El valor de luminosidad (L) en el queso (asociada con el color blanco a negro) desciende en los tres quesos experimentales durante el almacenamiento. El descenso del valor de L durante el almacenamiento del queso Oaxaca (disminución de su blancura) está en concordancia con lo encontrado por varios autores en queso Mozzarella bajo en grasa (Metzger *et al.*, 2001; Rudan *et al.*, 1998; Sheehan *et al.*, 2005). Estos autores atribuyeron el descenso de L a cambios en la estructura proteica (grado de hidratación de la proteína y grado de proteólisis) y a la concentración de solutos en el suero del queso, como por ejemplo los péptidos y otras sustancias nitrogenadas solubles generadas por proteólisis. Estos cambios producen una menor dispersión de la luz por parte de la estructura proteica y una mayor interacción (absorción) entre la luz y la grasa y sustancias disueltas en la fase acuosa.

Al igual que lo observado en este estudio, el moderado incremento en el valor de a^* durante la primera parte del almacenamiento seguido de un estancamiento también ha sido descrito en queso Mozzarella bajo en grasa (Rudan *et al.*, 1998). Sin embargo, estos autores no encontraron cambios significativos en el valor de b (amarillo) del queso durante su almacenamiento, mientras que en el queso Oaxaca sí que se observó un incremento. Sheehan *et al.* (2005) no encontraron cambios ni en a ni en b durante el almacenamiento (75 días) del queso Mozzarella bajo en grasa. En cualquier caso, en el queso Oaxaca los cambios en los índices a y b (incrementos) podrían estar en cierta medida relacionados entre sí y con los cambios en L (descenso), aunque a este respecto los primeros dos índices cambiaron al inicio del almacenamiento y el último al final.

Los quesos artesanales (Tabla 33) muestran una menor luminosidad y por lo tanto un menor índice de blancura. Los valores de a y b, también muestran un ligero descenso, por lo que el tono final de los quesos artesanales también corresponde al tono Pantone 1205C. Estas características se deben a que los quesos artesanales son elaborados con leche entera, cuyo contenido de grasa, carotenos y riboflavina es mayor (Mortensen *et al.*, 2004). Estos componentes son los responsables del tono amarillo pálido que se presenta el queso recién elaborado y cuya intensidad aumenta a lo largo del almacenamiento.

En el caso de los quesos industriales (Tabla 34) los parámetros de color indican, de manera general, un ligero aumento en la luminosidad y, por ende, en el índice de blancura. Las coordenadas a y b tienen valores menores a los de los quesos artesanales por lo que tornan más hacia el blanco que al amarillo pálido; teniendo una ligera variación respecto al Pantone 1025C que se utilizó para tipificar el color del queso Oaxaca.

Tabla 33. Parámetros de color en los quesos artesanales

Muestra	Luminosidad	Coordenada cromática a	Coordenada cromática b	Índice de blancura
QR1	91.17 ± 1.15 ⁱ	-3.40 ± 0.03 ^{ef}	16.24 ± 0.05 ^{bc}	81.18 ± 0.55 ^e
QR2	87.03 ± 1.10 ^{cd}	-3.49 ± 0.23 ^e	15.42 ± 0.10 ^{ab}	79.54 ± 0.80 ^d
QR3	86.64 ± 0.79 ^{bc}	-4.57 ± 0.06 ^a	19.92 ± 0.59 ^{fg}	75.58 ± 0.93 ^a
QR4	85.38 ± 1.22 ^{ab}	-4.15 ± 0.30 ^b	20.31 ± 0.16 ^{gh}	74.62 ± 0.65 ^a
QR5	87.86 ± 0.13 ^{cde}	-3.95 ± 0.08 ^{bc}	21.09 ± 0.39 ^h	75.35 ± 0.30 ^a
QA1	89.21 ± 0.43 ^{fgh}	-2.93 ± 0.25 ^g	14.70 ± 0.66 ^a	81.53 ± 0.59 ^e
QA2	89.53 ± 0.70 ^{fgh}	-3.10 ± 0.14 ^g	17.08 ± 0.84 ^{cd}	79.73 ± 1.09 ^d
QA3	90.27 ± 1.18 ^{hi}	-3.61 ± 0.17 ^{de}	15.13 ± 0.40 ^a	81.63 ± 0.67 ^e
QA4	91.22 ± 0.26 ⁱ	-2.99 ± 0.15 ^g	15.31 ± 1.02 ^{ab}	82.10 ± 0.94 ^e
QA5	88.28 ± 0.18 ^{def}	-3.84 ± 0.09 ^{cd}	19.29 ± 0.29 ^{ef}	77.11 ± 0.26 ^b
QT1	85.01 ± 0.82 ^a	-4.18 ± 0.11 ^b	18.51 ± 0.90 ^e	75.80 ± 0.51 ^a
QT2	87.34 ± 0.70 ^{cd}	-3.39 ± 0.24 ^{ef}	17.33 ± 1.15 ^d	78.27 ± 1.14 ^{bc}
QT3	85.27 ± 0.32 ^a	-3.77 ± 0.10 ^{cd}	19.97 ± 0.07 ^{fg}	74.90 ± 0.12 ^a
QT4	89.86 ± 0.63 ^{gh}	-3.15 ± 0.02 ^{fg}	15.49 ± 0.38 ^{ab}	81.22 ± 0.58 ^e
QT5	88.71 ± 0.65 ^{efg}	-2.97 ± 0.12 ^g	16.90 ± 0.44 ^{cd}	79.46 ± 0.67 ^{cd}

Los superíndices (a,b,c) diferentes entre filas indican diferencia significativa (P≤0.05) entre los parámetros de color respecto al tipo de queso.

Los quesos industriales, normalmente, son elaborados con leche descremada y pasteurizada. El menor contenido de grasa, así como de carotenoides y riboflavina tiene un impacto en el color, generando tonalidades más blancas. En este grupo de quesos también suelen emplearse aditivos como el dióxido de titanio, cuya finalidad es modificar el color del queso para hacerlo más blanco; o bien, anato y curcumina para hacerlo más amarillo.

Tabla 34. Parámetros de color en los quesos industriales

Muestra	Luminosidad	Coordenada cromática a	Coordenada cromática b	Índice de blancura
QI1	88.46 ± 0.26 ^{bcd}	-3.28 ± 0.05 ^d	15.94 ± 0.18 ^d	80.05 ± 0.05 ^b
QI2	88.38 ± 1.82 ^{bcd}	-3.56 ± 0.16 ^c	13.73 ± 0.30 ^{bc}	81.62 ± 0.94 ^c
QI3	86.93 ± 0.15 ^{bc}	-4.56 ± 0.05 ^a	17.25 ± 0.08 ^e	77.88 ± 0.13 ^a
QI4	88.65 ± 0.99 ^{cd}	-3.83 ± 0.13 ^b	13.73 ± 0.32 ^{bc}	81.76 ± 0.73 ^c
QI5	88.85 ± 0.83 ^d	-2.91 ± 0.09 ^e	13.48 ± 0.16 ^b	82.26 ± 0.50 ^c
QI6	86.85 ± 1.30 ^b	-3.31 ± 0.06 ^d	17.08 ± 0.33 ^e	78.18 ± 0.98 ^a
QI7	84.84 ± 1.38 ^a	-4.47 ± 0.03 ^a	14.72 ± 0.35 ^c	78.35 ± 0.35 ^a
QI8	89.28 ± 0.14 ^d	-3.36 ± 0.14 ^d	11.65 ± 0.37 ^a	83.82 ± 0.31 ^d
QI9	93.30 ± 1.18 ^e	-2.92 ± 0.21 ^e	11.89 ± 0.80 ^a	86.02 ± 1.16 ^e
QI10	89.09 ± 0.73 ^d	-3.91 ± 0.05 ^b	19.23 ± 0.80 ^f	77.53 ± 0.53 ^a

Los superíndices (a,b,c) diferentes entre filas indican diferencia significativa (P≤0.05) entre los parámetros de color respecto al tipo de queso.

3.5. Validación del método de cuantificación de VOC's para queso Oaxaca

3.5.1. Condiciones óptimas de extracción de VOC's

En este estudio se consideró como variable de respuesta el área de los picos generados por cada uno de los compuestos orgánicos volátiles VOC's en los cromatogramas. Con base en el diseño experimental propuesto se encontró que las únicas variables que tuvieron un impacto significativo sobre el área de los picos en el cromatograma ($\alpha \leq 0.05$) fueron el tiempo y la temperatura utilizadas en el baño ultrasónico. La región con los mejores valores de respuesta se encontró a 50 °C de temperatura y 30 minutos de tiempo de equilibrio (Figura 11). Asimismo, se requiere de 40 minutos de exposición de la fibra en el espacio de cabeza dentro del vial para maximizar la captura de VOC's del queso, así como de 5 min de exposición de la fibra en el inyector del cromatógrafo para lograr la máxima desorción de los volátiles.

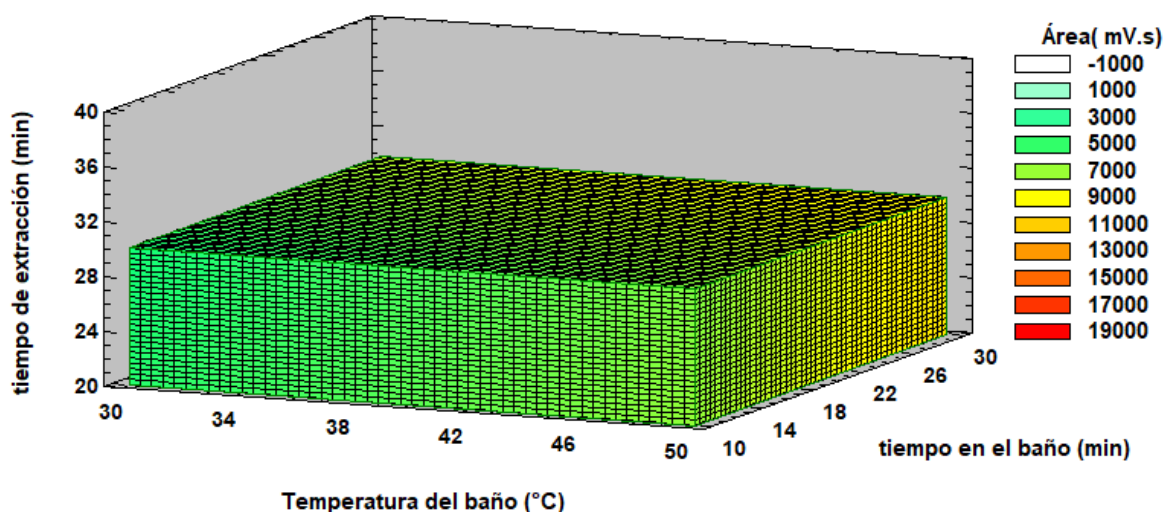


Figura 13. Superficie de respuesta estimada para maximizar el área de los picos cromatográficos

Se observó que un tiempo de desorción de 5 minutos y 50 °C en el baño de agitación ultrasónica mejoraron la señal de los picos en el cromatograma debido, posiblemente, a que se favoreció la liberación de los VOC's de la matriz de la fibra. A medida que aumenta la temperatura se favorece la liberación de más compuestos volátiles en el espacio de cabeza, ya que se incrementa el coeficiente de difusión del analito (Pérez-Palacios *et al.*, 2012); además, permite concentrar selectivamente ciertos volátiles en las fibras, con el desplazamiento simultáneo de otros (Wercinski, and J. Pawliszyn, 1999; Dufour, Delbecq and Albela, 2001), lo cual podría conducir a la exclusión progresiva de algunos analitos de bajo peso molecular (Burbank and Qian, 2005). Se observó que la señal de respuesta en el cromatógrafo disminuyó en las muestras que fueron tratadas a temperaturas mayores de 50 °C, debido posiblemente a que la grasa fundida se concentró en la superficie del queso lo que dificultó la liberación de los compuestos volátiles. Una exposición más prolongada de la fibra al espacio de cabeza generó una mayor señal de respuesta. Estos resultados coinciden con otros estudios que sugieren que para alcanzar el equilibrio entre el espacio de cabeza y el polímero de la fibra son

necesarios tiempos mayores a 30 min (Paula Barros *et al.*, 2012; Trujillo-Rodríguez *et al.*, 2014) y temperaturas entre 40 y 60 °C (Januszkiewicz *et al.*, 2008; Licón *et al.*, 2012).

3.5.2. Compuestos orgánicos volátiles identificados en el queso Oaxaca

Se detectaron un total de 21 compuestos volátiles mediante la técnica HS-SPME-CG-MS: 8 ácidos, 1 alcohol, 4 aldehídos, 4 cetonas, 1 éster y 3 lactonas (Tabla 35). Los compuestos identificados provienen de la degradación de los componentes de la cuajada por las enzimas presentes (microbianas, quimosina remanente, proteasa alcalina y lipasas) hasta moléculas de bajo peso molecular que pudieron identificarse mediante la técnica empleada (Kaminarides, Stamou and Massouras, 2007; Bontinis *et al.*, 2012).

Tabla 35. Propiedades fisicoquímicas de los VOC's identificados en queso Oaxaca

Compuesto	tr (min)	Pf (°C)	Pe (°C)	PM (g/mol)	δ (g/cm ³)	Polaridad	Solubilidad en agua	P. vap (hPa a 20°C)
Acetaldehído	5.52	-123.0	20.4	44.1	0.78	P	I	990
Diacetilo	6.85	-3.0	88.0	86.0	0.99	P	LSA	65
2-3 Pentanodiona	9.85	-52.0	111.0	100.1	0.96	P	LSA	28.5
Metilamilcetona	12.71	-35.5	151.0	114.2	0.82	P	LSA	4.5
Ácido acético	14.49	17.0	118.1	60.0	1.05	P	I	15
Acetoína	16.53	15.0	143.0	88.0	1.01	P	I	ND
Ácido propiónico	17.20	-21.0	141.0	74.1	0.99	P	I	3.9
Furfural	17.72	-36.0	162.0	96.1	1.16	P	LSA	2.3
Decanal	18.49	-5.0	209.0	156.2	0.83	AP	IN	0.2
Butiraldehído	19.30	-99.0	74.8	72.1	0.80	P	LSA	122
Ácido butírico	20.89	-5.0	163.0	88.1	0.95	P	I	1.0
Ácido isovaleriánico	22.25	-26.0	176.0	102.1	0.92	P	LSA	0.5
Ácido valérico	28.67	-34.0	185.0	102.0	0.93	P	LSA	0.2
Ácido caprónico	28.88	-4.0	205.0	116.2	0.92	P	LSA	0.3
Laurato de etilo	33.84	-10.0	272.0	228.4	0.86	AP	IN	ND
Ácido caprílico	36.87	17.0	238.0	144.2	0.91	AP	IN	0.1
Ácido láctico	37.71	16.8	125.0	90.1	1.21	P	I	0.0041
δ -decalactona	38.56	-25.0	284.0	170.3	0.97	AP	IN	ND
Sulfurol	39.77	ND	280.0	143.2	1.19	P	I	ND
γ -dodecalactona	40.69	7.0	291.0	198.3	0.93	AP	IN	ND
δ -dodecalactona	41.34	-7.0	285.0	198.0	0.94	AP	IN	ND

Pf: punto de fusión; Pe: punto de ebullición; PM: peso molecular; δ : densidad; P.vap: presión de vapor. P: polar; AP: apolar; I: ilimitada; LSA: ligeramente soluble en agua; IN: insoluble; ND: no determinada.

Estos compuestos se forman durante el proceso y el almacenamiento, y se dispersan rápidamente debido a su alta volatilidad (Hayaloglu *et al.*, 2013). Los ésteres se originan en la reacción de esterificación entre ácidos grasos de cadena corta y etanol (Bontinis *et al.*, 2012). Las cetonas son el producto de la β -oxidación de ácidos grasos libres generados durante la lipólisis (Vandeweghe and Reineccius, 1990; Bontinis *et al.*, 2012), mientras que los ácidos son compuestos que se pueden formar a través de la lipólisis, la proteólisis y la fermentación de la

lactosa. Los aldehídos se conocen como compuestos volátiles transitorios, ya que se convierten rápidamente en ácidos o alcoholes; algunos se forman a través de la reacción de Strecker, como el butiraldehído (Atasoy *et al.*, 2013; Kondyli *et al.*, 2013). Los terpenos son compuestos producidos por las plantas y, su presencia en la leche o en los productos lácteos se debe a la alimentación de las vacas (Wolf *et al.*, 2010); su identificación puede ser útil para determinar el origen geográfico del queso.

3.5.3. Compuestos orgánicos volátiles cuantificados

Las ecuaciones de regresión y los parámetros de validación de la técnica de adición de un estándar se muestran en la Tabla 36. La cuantificación de compuestos de aroma en los quesos se obtuvo extrapolando en las curvas de calibración de cada compuesto. Las curvas estándar de los 21 compuestos cuantificados en los quesos mostraron coeficientes de correlación lineal entre 0.945 y 0.987. En función de estos valores se puede aseverar que la técnica SPME presenta una linealidad conveniente para estimar la concentración de VOC's en quesos frescos.

Tabla 36. Ecuaciones de regresión y parámetros de validación para la cuantificación de compuestos de aroma determinadas por SPME-GC

Compuesto	Tr (min)	Ecuación	r ²	CV %	LD ng/μg	LC ng/μg	Porcentaje de recobro
Acetaldehído	5.52	y = 3746772.02x + 103620.78	0.987	2.7	0.00293	0.00887	90.87
Diacetilo	6.85	y = 709059x + 5646.6	0.945	15.2	0.00737	0.02234	78.06
2-3 Pentanodiona	9.85	y = 3577799.04x - 1499.9	0.955	22.6	0.00835	0.02529	78.24
Metilamilcetona	12.71	y = 4714614.17x + 5056.69	0.974	15.1	0.00709	0.02148	82.27
Ácido acético	14.49	y = 159671x + 849.14	0.982	8.9	0.00554	0.01680	92.88
Acetoína	16.53	y = 163518x + 2671	0.973	7.1	0.00570	0.01728	88.44
Ácido propiónico	17.20	y = 107829x + 14763	0.977	1.7	0.00670	0.02029	95.68
Furfural	17.72	y = 4528428.9x + 68216	0.983	8.0	0.00782	0.02369	76.34
Decanal	18.49	y = 1906911.89x + 13981	0.964	10.1	0.00888	0.02690	80.03
Butiraldehído	19.30	y = 723336x + 53.96	0.962	22.9	0.00403	0.01220	59.79
Ácido butírico	20.89	y = 412505x + 27452	0.970	4.3	0.00919	0.02785	64.84
Ácido isovaleriánico	22.25	y = 1255034.82x + 51734	0.951	7.1	0.01027	0.03111	89.36
Ácido valérico	28.67	y = 1028655.31x + 51205	0.979	4.0	0.00675	0.02045	78.33
Ácido caprónico	28.88	y = 3284654.32x - 39023	0.983	9.5	0.00960	0.02911	89.84
Laurato de etilo	33.84	y = 5407740.25x + 26006	0.971	5.8	0.00111	0.00337	80.64
Ácido caprílico	36.87	y = 1764166.67x + 17995	0.973	10.9	0.00812	0.02460	79.72
Ácido láctico	37.71	y = 775833.6x + 12405	0.974	6.0	0.00413	0.01253	66.04
δ-decalactona	38.56	y = 1000821x + 8093	0.973	8.3	0.00510	0.01545	85.25
Sulfurol	39.77	y = 4565606.08x - 14564.63	0.963	15.5	0.00574	0.01740	93.44
γ-dodecalactona	40.69	y = 559289x + 21414	0.987	2.6	0.00630	0.01909	74.65
δ-dodecalactona	41.34	y = 649639x + 18079	0.983	5.1	0.00641	0.01944	82.59

tr: tiempo de retención; r²: factor de correlación; CV: coeficiente de variación; LD: límite de detección; LC: límite de cuantificación. y: relación del área del compuesto/área del estándar adicionado; x: relación de la concentración del compuesto/concentración del estándar adicionado.

El límite de detección indica la concentración mínima de analito que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones del estudio, mientras que el límite de cuantificación representa la concentración mínima de analito que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables. Los resultados muestran que tanto el límite de detección (LD) como el límite de cuantificación (LC) se encuentran en niveles de ng/ μ g. El LD presentó un intervalo de 0.00111 a 0.01027 ng/ μ g, mientras que en el LC fue de 0.00337 a 0.03111 ng/ μ g.

El coeficiente de variación (CV) de los compuestos analizados se encuentra en el intervalo de 1.7 a 22.9%, con un promedio de 9.2 y una mediana de 8.0. El porcentaje de recobro se sitúa entre 59.79 y 95.68%. Esta variabilidad pudiera deberse a la variación del equilibrio que se logra establecer entre los coeficientes de distribución de las tres principales fases que integran el sistema de análisis (la muestra, el espacio de cabeza y la fibra). Dichos equilibrios se ven afectados por las características fisicoquímicas del queso (fuerza iónica, pH, concentración de sal, contenido de materia orgánica disuelta), la naturaleza fisicoquímica del analito (peso molecular, polaridad, solubilidad, presión de vapor), la selectividad del recubrimiento de la fibra y las condiciones del análisis (tiempo y temperatura de extracción y desorción). Así, los ácidos propiónico, acético caprónico, valérico, así como el acetaldehído y la acetoína son los compuestos que presentan mayores porcentajes de recobro. Este comportamiento puede atribuirse a que estas moléculas tienen menor punto de fusión y ebullición, mayor presión de vapor y volatilidad (Tabla 35), lo cual promueve una mayor difusión entre las fases y se favorece su extracción.

Por otro lado, la fibra utilizada (DVB-CAR-PDMS) tiene afinidad por los compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles tanto polares como apolares de 3 a 20 átomos de carbono con peso molecular de 40 a 275 g/mol. Estos compuestos pueden ser retenidos en macro, meso y microporos de la parte sólida de la fibra. La fibra seleccionada tuvo el mejor desempeño en la extracción de compuestos volátiles responsables del aroma en el queso, ya que su revestimiento tiene afinidad por todos los compuestos identificados. Se puede sugerir que, la posibilidad de que el analito sea atrapado en la fibra depende de la concentración de éste en el espacio de cabeza; y que la concentración dependería de la difusión lograda en las condiciones de extracción (tiempo, temperatura, agitación).

La linealidad de las curvas estimadas para calcular la concentración de analitos presentó valores de r^2 de 0.957 a 0.987. Estas correlaciones son adecuadas, tomando en cuenta que la variación en la sensibilidad de la técnica SPME es elevada.

En la Tabla 37 se muestran las concentraciones de VOC's para cada uno de los quesos experimentales determinadas a partir de la técnica HS-SPME-CG-MS

Tabla 37. Evolución de la Concentración de VOC's en quesos Oaxaca experimentales durante el almacenamiento (ng/μL)

VOC	QC				QM				QT			
	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22
Acetaldehído	0.0177 ^a	0.0192 ^{ab}	0.0198 ^b	0.0220 ^c	0.0075 ^a	0.0110 ^{ab}	0.0146 ^b	0.0245 ^c	0.0031 ^a	0.0046 ^a	0.0114 ^b	0.0233 ^c
Diacetilo	0.0053 ^a	0.0074 ^a	0.0473 ^b	0.0543 ^c	0.0059 ^a	0.0035 ^a	0.0086 ^a	0.0224 ^a	0.0025 ^a	0.0049 ^{ab}	0.0063 ^{bc}	0.0093 ^c
2-3 Pentanodiona	0.0006 ^a	0.0008 ^{ab}	0.0012 ^{bc}	0.0013 ^c	0.0006 ^a	0.0007 ^a	0.0012 ^a	0.0015 ^a	0.0006 ^a	0.0010 ^a	0.0013 ^a	0.0026 ^b
Metilamilcetona	0.0005 ^a	0.0010 ^a	0.0031 ^a	0.0230 ^b	0.0010 ^a	0.0009 ^a	0.0009 ^a	0.0009 ^a	0.0009 ^a	0.0009 ^a	0.0009 ^a	0.0009 ^a
Ácido acético	0.0059 ^a	0.0105 ^b	0.0120 ^b	0.0135 ^b	0.0067 ^a	0.0124 ^a	0.0217 ^b	0.0287 ^b	0.0057 ^a	0.0118 ^b	0.0135 ^b	0.0239 ^c
Acetoína	0.0033 ^a	0.0262 ^a	0.3868 ^b	0.2581 ^c	0.0372 ^a	0.1424 ^{ab}	0.5444 ^b	0.2120 ^{ab}	0.0389 ^a	0.0257 ^a	0.3637 ^a	0.1099 ^a
Ácido propiónico	0.0166 ^a	0.0886 ^a	0.1831 ^a	0.0808 ^a	0.0709 ^a	0.1171 ^a	0.1129 ^a	0.0927 ^a	0.0481 ^a	0.0934 ^a	0.0915 ^a	0.0734 ^a
Furfural	0.0119 ^a	0.0110 ^{ab}	0.0102 ^b	0.0086 ^c	0.0150 ^a	0.0148 ^{ab}	0.0145 ^b	0.0145 ^b	0.0149 ^a	0.0148 ^a	0.0147 ^{ab}	0.0142 ^b
Decanal	0.0052 ^a	0.0085 ^b	0.0039 ^a	0.0008 ^c	0.0058 ^{ab}	0.0069 ^b	0.0067 ^b	0.0053 ^a	0.0057 ^a	0.0072 ^a	0.0062 ^a	0.0060 ^a
Butiraldehído	0.0020 ^a	0.0009 ^a	0.0028 ^a	0.0027 ^a	0.0044 ^a	0.0026 ^a	0.0029 ^a	0.0015 ^a	0.0034 ^a	0.0017 ^a	0.0028 ^a	0.0020 ^a
Ácido butírico	0.0434 ^{ab}	0.0378 ^a	0.0492 ^{ab}	0.0606 ^b	0.0658 ^a	0.0616 ^a	0.0633 ^a	0.0640 ^a	0.0597 ^a	0.0588 ^a	0.0632 ^{ab}	0.0656 ^b
Ácido isovaleriánico	0.0210 ^a	0.0372 ^b	0.0402 ^{bc}	0.0408 ^c	0.0395 ^a	0.0398 ^{ab}	0.0400 ^{bc}	0.0404 ^c	0.0381 ^a	0.0394 ^b	0.0397 ^b	0.0399 ^b
Ácido valérico	0.0455 ^a	0.0339 ^a	0.0310 ^a	0.0251 ^a	0.0455 ^a	0.0444 ^a	0.0420 ^a	0.0419 ^a	0.0472 ^a	0.0471 ^a	0.0462 ^a	0.0453 ^a
Ácido capríco	0.0127 ^a	0.0143 ^a	0.0148 ^a	0.0172 ^a	0.0125 ^a	0.0126 ^a	0.0127 ^a	0.0130 ^a	0.0126 ^a	0.0132 ^a	0.0136 ^a	0.0147 ^a
Laurato de etilo	0.0024 ^a	0.0022 ^a	0.0019 ^a	0.0014 ^a	0.0036 ^a	0.0035 ^a	0.0027 ^b	0.0022 ^c	0.0031 ^a	0.0030 ^a	0.0029 ^a	0.0023 ^a
Ácido caprílico	0.0058 ^a	0.0078 ^a	0.0080 ^a	0.0096 ^a	0.0029 ^a	0.0039 ^a	0.0052 ^a	0.0059 ^a	0.0013 ^a	0.0027 ^a	0.0033 ^a	0.0043 ^a
Ácido láctico	0.0368 ^a	0.0245 ^{ab}	0.0162 ^{ab}	0.0091 ^b	0.0241 ^a	0.0124 ^{ab}	0.0080 ^{ab}	0.0036 ^b	0.0283 ^a	0.0127 ^{ab}	0.0123 ^{ab}	0.0029 ^b
δ-decalactona	0.0042 ^a	0.0097 ^a	0.0240 ^a	0.0309 ^a	0.0050 ^a	0.0071 ^a	0.0197 ^a	0.0273 ^a	0.0109 ^a	0.0225 ^a	0.0266 ^a	0.0330 ^a
Sulfurol	0.0063 ^a	0.0064 ^a	0.0101 ^a	0.0182 ^b	0.0045 ^a	0.0048 ^a	0.0088 ^a	0.0098 ^a	0.0047 ^a	0.0047 ^a	0.0077 ^{ab}	0.0087 ^b
γ-dodecalactona	0.0097 ^a	0.0142 ^a	0.0201 ^a	0.0498 ^a	0.0227 ^a	0.0277 ^a	0.0300 ^a	0.0406 ^a	0.0070 ^a	0.0224 ^{ab}	0.0230 ^{ab}	0.0340 ^b
δ-dodecalactona	0.0079 ^a	0.0316 ^{ab}	0.0348 ^{ab}	0.0573 ^b	0.0206 ^a	0.0244 ^a	0.0249 ^a	0.0331 ^a	0.0158 ^a	0.0208 ^a	0.0220 ^a	0.0245 ^a

a,b,c Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas (P≤0.05) entre los valores de la concentración por día.

QC: queso elaborado con leche cruda; QM: queso elaborado con cultivo mesofílico; QT: queso elaborado con cultivo termofílico.

Los compuestos que presentaron mayor concentración (Tabla 37) en el queso experimental elaborado con leche cruda (QC), en orden decreciente, fueron: ácido propiónico > ácido butírico > acetoína > ácido isovaleriánico > δ -dodecalactona > acetaldehído > ácido valérico > γ -dodecalactona > ácido láctico > ácido caprónico. En el queso experimental elaborado con cultivo mesofílico (QM): acetoína > ácido propiónico > ácido butírico > ácido valérico > ácido isovaleriánico > γ -dodecalactona > δ -dodecalactona > furfural > ácido caprónico > acetaldehído; mientras que en queso elaborado con cultivo termofílico (QT): acetoína > ácido propiónico > ácido butírico > ácido valérico > ácido isovaleriánico > δ -dodecalactona > γ -dodecalactona > δ -dodecalactona > furfural > ácido caprónico. La cuantificación de VOC's en quesos durante el almacenamiento confirmó que los parámetros establecidos en la validación de la técnica son adecuados: los resultados son reproducibles y hay homogeneidad en los datos.

En los quesos frescos el aroma es un atributo que se modifica rápidamente, cuya caracterización depende del tipo, cantidad y concentración de compuestos volátiles y semivolátiles. Estos compuestos resultan de la degradación de los componentes del queso por las enzimas microbianas presentes. En este estudio se encontró que el tipo y cantidad de VOC's en los quesos en almacenamiento, se mantienen; pero la concentración cambia (Tabla 37). La mayor concentración y variación de VOC' se observó en el queso QC; mientras que en los quesos QM y QT los VOC's tuvieron un comportamiento similar; aunque la concentración fue mayor en el queso QM. La concentración de acetaldehído, diacetilo, acetoína, ácido acético y ácido caprónico aumentó en los tres quesos, mientras que el ácido láctico, ácido valérico, butiraldehído y furfural disminuyeron al final del almacenamiento.

Los resultados de ANOVA y comparaciones múltiples mostraron cambios en la concentración de los VOC's durante el almacenamiento. En el queso QC, hubo cambios significativos en 13 VOC's: acetaldehído, diacetilo, 2,3-pentanodiona, metilamilcetona, ácido acético, acetoína, furfural, decanal, ácido butírico, ácido isovaleriánico, ácido láctico, sulfurool, δ -dodecalactona. En el queso MC 8 compuestos presentaron diferencias significativas: acetaldehído, ácido acético, acetoína, furfural, decanal, ácido isovaleriánico, laurato de etilo, ácido láctico. En el queso QT hubo cambios significativos en 10 compuestos: acetaldehído, diacetilo, 2,3-pentanodiona, ácido acético, furfural, ácido butírico, ácido isovaleriánico, ácido láctico, sulfurool, γ -dodecalactona. Los mayores cambios observados en el queso QC pueden deberse a que en este queso existe una microbiota y enzimas variadas que participan en la degradación de los componentes del queso que conducen a transformaciones rápidas en las moléculas. En los tres quesos, los cambios más significativos se presentaron entre el día 1 y 15 de almacenamiento.

3.5.4. Valor de actividad aromática (Odor Activity Value, OAV)

Los conceptos de valor de actividad de aroma u olor y valor de actividad de sabor se basan en la suposición de que los compuestos de aroma y sabor presentes en una cantidad inferior a

sus umbrales no contribuyen al aroma o sabor general. El valor de actividad aromática se obtiene a partir de la relación existente entre la concentración de un compuesto volátil aromático y su umbral de percepción:

$$OAV = \frac{\text{Concentración del compuesto}}{\text{Umbral de aroma}}$$

De manera general se puede decir que cuando el OAV de un compuesto aromático es inferior a uno (por debajo de los umbrales de detección sensorial), es muy probable que el compuesto no sea importante para el aroma del producto. Por el contrario, cuando el OAV de un compuesto tiene valores mayores a uno, es muy probable que ese compuesto contribuya de manera importante en el aroma del producto.

Los valores del umbral sensorial pueden variar dependiendo de la matriz de la muestra, el pH, la temperatura de la muestra y las técnicas empleadas en su determinación. Es por ello, que los cálculos del OAV y las comparaciones de la contribución del aroma basadas en OAV deben realizarse con un método específico de evaluación. Idealmente, los umbrales sensoriales deben determinarse en una matriz que se asemeje lo más posible al producto en estudio. En el caso de los alimentos, resulta muy difícil encontrar una matriz adecuada que refleje la complejidad de un producto alimenticio. Es por ello, que en este tipo de productos el OAV se determine a partir de soluciones oleosas o acuosas de los VOC's en cuestión y se comparen con lo que se puede percibir en el alimento. En este estudio, los umbrales sensoriales fueron tomados de diferentes fuentes bibliográficas y se observó que la mayoría de los odorantes se disolvieron, preferentemente, en una fase oleosa para representar de una mejor manera a la matriz del queso.

En la Tabla 38, 39 y 40 se muestran el OAV de los principales VOC's identificados en los quesos Oaxaca experimentales, así como sus cambios durante el almacenamiento.

Se observa que en el queso QC recién elaborado los principales compuestos responsables del aroma en orden decreciente son: ácido valérico, decanal, metilamilcetona, ácido isovaleriánico, acetaldehído, ácido butírico, γ -dodecalactona, 2,3-pentanodiona, ácido propiónico y acetoína. Así, se tiene que al inicio del almacenamiento los descriptores de aroma predominantes en este queso son: queso fresco, butírico (poco rancio), tortilla frita de maíz, ciertas notas frutales y cítricas (Tabla 16). De acuerdo a las concentraciones reportadas se puede asumir que el ácido láctico también desempeña un papel importante dentro del aroma característico del queso Oaxaca; sin embargo, esto no ha podido demostrarse debido a que no se han reportado sus umbrales de percepción.

Si se revisa el cambio de los OAV en el tiempo, se puede notar que los diez compuestos que participan de manera importante en el aroma del queso Oaxaca recién elaborado, lo hacen

también a lo largo de su vida útil. Durante el almacenamiento, se puede observar una reducción del OAV en el decanal (0.52 a 0.08) y en el ácido valérico (0.6 a 0.3); así como un aumento en la acetoína (0.0004 a 0.32), metilamilcetona (0.5 a 23), ácido isovaleriánico (0.08 a 0.16), acetaldehído (0.08 a 0.1), ácido butírico (0.04 a 0.06), γ -dodecalactona (0.03 a 0.16), 2,3-pentanodiona (0.03 a 0.06) y ácido propiónico (0.01 a 0.09).

En el queso QM los compuestos con mayor participación en el aroma global, en orden de importancia fueron: metilamilcetona, ácido valérico, decanal, ácido isovaleriánico, ácido propiónico, γ -dodecalactona, ácido butírico, furfural, acetaldehído, 2,3-pentanodiona y acetoína. Diez de estos compuestos son los mismos que caracterizan el aroma del queso QC, agregándose el furfural como compuesto aromático relevante. Cabe mencionar que cambian las concentraciones y por lo tanto el OAV de cada compuesto en este queso, razón por la que el perfil aromático resulta diferente al queso elaborado con leche cruda.

Los OAV de estos compuestos durante la vida útil cambian de la siguiente manera: metilamilcetona (1.02 a 0.94), ácido valérico (0.6 a 0.55), decanal (0.58 a 0.52), ácido isovaleriánico (0.15 a 0.16), ácido propiónico (0.07 a 0.1), γ -dodecalactona (0.07 a 0.13), ácido butírico (0.065 a 0.064), furfural (0.041 a 0.040), acetaldehído (0.03 a 0.11), 2,3-pentanodiona (0.03 a 0.07), acetoína (0.004 a 0.026). De ahí que el queso QM teóricamente debe contar con un perfil aromático en el que los descriptores frutales, láctico acidificado, caramélico y cremoso destaquen sobre otras notas.

En este caso, durante el almacenamiento, la metilamilcetona, ácido valérico y decanal disminuyen su OAV; el ácido isovaleriánico, ácido propiónico, γ -dodecalactona, acetaldehído, 2,3-pentanodiona y la acetoína lo incrementan; mientras que en el ácido butírico y el furfural el valor se mantiene prácticamente constante.

En el queso QT los VOC's con mayor importancia fueron: metilamilcetona, ácido valérico, decanal, ácido isovaleriánico, ácido butírico, ácido propiónico, furfural, 2-3 Pentanodiona, δ -decalactona, γ -dodecalactona, acetaldehído, ácido caprónico y acetoína. En este queso se acentúan la nota de láctico acidificado y las notas frutales, principalmente durazno, asociada a la presencia de δ -decalactona. Los cambios en el OAV durante el almacenamiento fueron: metilamilcetona (0.88 a 0.87), ácido valérico (0.62 a 0.60), decanal (0.56 a 0.59), ácido isovaleriánico (0.152 a 0.159), ácido butírico (0.05 a 0.06), ácido propiónico (0.05 a 0.08), furfural (0.04 a 0.03), 2-3 pentanodiona (0.02 a 0.13), δ -decalactona (0.02 a 0.08), γ -dodecalactona (0.02 a 0.11), acetaldehído (0.01 a 0.10), ácido caprónico (0.012 a 0.014) y acetoína (0.004 a 0.013). En este queso los cambios de OAV en la vida útil son menores que en los quesos QC y QM, manteniéndose prácticamente constantes a lo largo del tiempo.

De esta forma se puede asumir que las modificaciones en los OAV, que a su vez están asociadas a los cambios de concentración en los VOC's durante el almacenamiento, impactan en la percepción del aroma en los quesos experimentales, pues a pesar de que los VOC's implicados coinciden, el aroma característico de cada tipo de queso es diferente en función de los microorganismos involucrados en el proceso de elaboración de cada queso.

Tabla 38. Valor de actividad aromática (OAV) de VOC's identificados en queso Oaxaca experimental elaborado con leche cruda durante el almacenamiento.

VOC	Descriptor del aroma	Umbral de aroma (ppm)	Referencia	Día 1	OAV	Día 8	OAV	Día 15	OAV	Día 22	OAV
Acetaldehído	Manzana, pera, alcohol	0.22	(Kubícková and Grosch, 1998)	0.0177 ^a	0.0805	0.0192 ^{ab}	0.0873	0.0198 ^b	0.09	0.0220 ^c	0.10
Diacetilo	Mantequilla, maíz tostado	10.0	(Qian and Reineccius, 2003)	0.0053 ^a	0.0005	0.0074 ^a	0.0007	0.0473 ^b	0.0047	0.0543 ^c	0.0054
2-3 Pentanodiona	Tortilla frita, queso	0.0195	(AIHA, 2003)	0.0006 ^a	0.0308	0.0008 ^{ab}	0.041	0.0012 ^{bc}	0.0615	0.0013 ^c	0.0667
Metilamilcetona	Plátano, frutal, especiado	0.001	(Qian and Wang, 2005)	0.0005 ^a	0.5	0.0010 ^a	1.0	0.0031 ^a	3.1	0.0230 ^b	23.0
Ácido acético	Vinagre, pungente	60.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0059 ^a	0.0001	0.0105 ^b	0.0002	0.0120 ^b	0.0002	0.0135 ^b	0.0002
Acetoína	Mantequilla	8.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0033 ^a	0.0004	0.0262 ^a	0.0033	0.3868 ^b	0.0484	0.2581 ^c	0.0323
Ácido propiónico	Queso, mantequilla rancios	0.89	(Parker <i>et al.</i> , 2012)	0.0166 ^a	0.0187	0.0886 ^a	0.0996	0.1831 ^a	0.2057	0.0808 ^a	0.0908
Furfural	Almendra, caramelo	0.357	(AIHA, 2003)	0.0119 ^a	0.0333	0.0110 ^{ab}	0.0308	0.0102 ^b	0.0286	0.0086 ^c	0.0241
Decanal	Piel de cítrico	0.01	(Siek <i>et al.</i> , 1971)	0.0052 ^a	0.52	0.0085 ^b	0.85	0.0039 ^a	0.39	0.0008 ^c	0.08
Butiraldehído	Verde, plátano natural	2.54	(AIHA, 2003)	0.0020 ^a	0.0008	0.0009 ^a	0.0004	0.0028 ^a	0.0011	0.0027 ^a	0.0011
Ácido butírico	Queso rancio, agrio	1.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0434 ^{ab}	0.0434	0.0378 ^a	0.0378	0.0492 ^{ab}	0.0492	0.0606 ^b	0.0606
Ácido isovaleriánico	Queso rancio, acre	0.25	(Qian and Wang, 2005)	0.0210 ^a	0.084	0.0372 ^b	0.1488	0.0402 ^{bc}	0.1608	0.0408 ^c	0.1632
Ácido valérico	Corteza de queso, butírico	0.075	(Parker <i>et al.</i> , 2012)	0.0455 ^a	0.6067	0.0339 ^a	0.452	0.0310 ^a	0.4133	0.0251 ^a	0.3347
Ácido caprónico	Queso, grasa rancios	1.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0127 ^a	0.0127	0.0143 ^a	0.0143	0.0148 ^a	0.0148	0.0172 ^a	0.0172
Laurato de etilo	Microbital, afrutado, ron	3.5	(Qian and Wang, 2005)	0.0024 ^a	0.0007	0.0022 ^a	0.0006	0.0019 ^a	0.0005	0.0014 ^a	0.0004
Ácido caprílico	Cabra, agrio, grasoso	0.91	(Qian and Wang, 2005)	0.0058 ^a	0.0064	0.0078 ^a	0.0086	0.0080 ^a	0.0088	0.0096 ^a	0.0105
Ácido láctico	Ciruela pasa, caramelo	---	---	0.0368 ^a	-	0.0245 ^{ab}	-	0.0162 ^{ab}	-	0.0091 ^b	-
δ-decalactona	Afrutado, nuez, caramelo	0.4	(Kubícková and Grosch, 1998)	0.0042 ^a	0.0105	0.0097 ^a	0.0243	0.0240 ^a	0.06	0.0309 ^a	0.0773
Sulfurol	Nata, lácteo, judía	10.0	(Cheetham, 2010)	0.0063 ^a	0.0006	0.0064 ^a	0.0006	0.0101 ^a	0.001	0.0182 ^b	0.0018
γ-dodecalactona	Durazno, cremoso	0.3	(Siek <i>et al.</i> , 1971)	0.0097 ^a	0.0323	0.0142 ^a	0.0473	0.0201 ^a	0.067	0.0498 ^a	0.166
δ-dodecalactona	Afrutado, oleoso	95.0	(Siek <i>et al.</i> , 1969)	0.0079 ^a	0.0001	0.0316 ^{ab}	0.0003	0.0348 ^{ab}	0.0004	0.0573 ^b	0.0006

Tabla 39. Valor de actividad aromática (OAV) de VOC's identificados en queso Oaxaca experimental elaborado con cultivo mesofílico durante el almacenamiento

VOC	Descriptor del aroma	Umbral de aroma (ppm)	Referencia	Día 1	OAV	Día 8	OAV	Día 15	OAV	Día 22	OAV
Acetaldehído	Manzana, pera, alcohol	0.22	(Kubicková and Grosch, 1998)	0.0075 ^a	0.0340	0.0110 ^{ab}	0.0500	0.0146 ^b	0.0663	0.0245 ^c	0.1116
Diacetilo	Mantequilla, maíz tostado	10.0	(Qian and Reineccius, 2003)	0.0059 ^a	0.0006	0.0035 ^a	0.0004	0.0086 ^a	0.0009	0.0224 ^a	0.0022
2-3 Pentanodiona	Tortilla frita, queso	0.0195	(AIHA, 2003)	0.0006 ^a	0.0322	0.0007 ^a	0.0355	0.0012 ^a	0.0617	0.0015 ^a	0.0786
Metilamilcetona	Plátano, frutal, especiado	0.001	(Qian and Wang, 2005)	0.0010 ^a	1.0271	0.0009 ^a	0.9307	0.0009 ^a	0.9179	0.0009 ^a	0.940
Ácido acético	Vinagre, pungente	60.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0067 ^a	0.0001	0.0124 ^a	0.0002	0.0217 ^b	0.0004	0.0287 ^b	0.0005
Acetoína	Mantequilla	8.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0372 ^a	0.0047	0.1424 ^{ab}	0.0178	0.5444 ^b	0.0680	0.2120 ^{ab}	0.0265
Ácido propiónico	Queso, mantequilla rancios	0.89	(Parker <i>et al.</i> , 2012)	0.0709 ^a	0.0797	0.1171 ^a	0.1316	0.1129 ^a	0.1269	0.0927 ^a	0.1041
Furfural	Almendra, caramelo	0.357	(AIHA, 2003)	0.0150 ^a	0.0419	0.0148 ^{ab}	0.0414	0.0145 ^b	0.0407	0.0145 ^b	0.0405
Decanal	Piel de cítrico	0.01	(Siek <i>et al.</i> , 1971)	0.0058 ^{ab}	0.5815	0.0069 ^b	0.6879	0.0067 ^b	0.6739	0.0053 ^a	0.5261
Butiraldehído	Verde, plátano natural	2.54	(AIHA, 2003)	0.0044 ^a	0.0017	0.0026 ^a	0.0010	0.0029 ^a	0.0012	0.0015 ^a	0.0006
Ácido butírico	Queso rancio, agrio	1.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0658 ^a	0.0658	0.0616 ^a	0.0616	0.0633 ^a	0.0633	0.0640 ^a	0.0640
Ácido isovaleriánico	Queso rancio, acre	0.25	(Qian and Wang, 2005)	0.0395 ^a	0.1579	0.0398 ^{ab}	0.1592	0.0400 ^{bc}	0.1602	0.0404 ^c	0.1616
Ácido valérico	Corteza de queso, butírico	0.075	(Parker <i>et al.</i> , 2012)	0.0455 ^a	0.6068	0.0444 ^a	0.5915	0.0420 ^a	0.5602	0.0419 ^a	0.5593
Ácido capríco	Queso, grasa rancios	1.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0125 ^a	0.0125	0.0126 ^a	0.0126	0.0127 ^a	0.0127	0.0130 ^a	0.0130
Laurato de etilo	Microbital, afrutado, ron	3.5	(Qian and Wang, 2005)	0.0036 ^a	0.0010	0.0035 ^a	0.0010	0.0027 ^b	0.0008	0.0022 ^c	0.0006
Ácido caprílico	Cabra, agrio, grasoso	0.91	(Qian and Wang, 2005)	0.0029 ^a	0.0031	0.0039 ^a	0.0043	0.0052 ^a	0.0057	0.0059 ^a	0.0065
Ácido láctico	Ciruela pasa, caramelo	---	---	0.0241 ^a	-	0.0124 ^{ab}	-	0.0080 ^{ab}	-	0.0036 ^b	-
δ-decalactona	Afrutado, nuez, caramelo	0.4	(Kubicková and Grosch, 1998)	0.0050 ^a	0.0124	0.0071 ^a	0.0177	0.0197 ^a	0.0491	0.0273 ^a	0.0682
Sulfurol	Nata, lácteo, judía	10.0	(Cheetham, 2010)	0.0045 ^a	0.0004	0.0048 ^a	0.0005	0.0088 ^a	0.0009	0.0098 ^a	0.0010
γ-dodecalactona	Durazno, cremoso	0.3	(Siek <i>et al.</i> , 1971)	0.0227 ^a	0.0756	0.0277 ^a	0.0923	0.0300 ^a	0.0999	0.0406 ^a	0.1354
δ-dodecalactona	Afrutado, oleoso	95.0	(Siek <i>et al.</i> , 1969)	0.0206 ^a	0.0002	0.0244 ^a	0.0003	0.0249 ^a	0.0003	0.0331 ^a	0.0003

Tabla 40. Valor de actividad aromática (OAV) de VOC's identificados en queso Oaxaca experimental elaborado con cultivo termofílico durante el almacenamiento

VOC	Descriptor del aroma	Umbral de aroma (ppm)	Referencia	Día 1	OAV	Día 8	OAV	Día 15	OAV	Día 22	OAV
Acetaldehído	Manzana, pera, alcohol	0.22	(Kubícková and Grosch, 1998)	0.0031 ^a	0.0140	0.0046 ^a	0.0208	0.0114 ^b	0.0519	0.0233 ^c	0.1058
Diacetilo	Mantequilla, maíz tostado	10.0	(Qian and Reineccius, 2003)	0.0025 ^a	0.0002	0.0049 ^{ab}	0.0005	0.0063 ^{bc}	0.0006	0.0093 ^c	0.0009
2-3 Pentanodiona	Tortilla frita, queso	0.0195	(AIHA, 2003)	0.0006 ^a	0.0286	0.0010 ^a	0.0488	0.0013 ^a	0.0658	0.0026 ^b	0.1311
Metilamilcetona	Plátano, frutal, especiado	0.001	(Qian and Wang, 2005)	0.0009 ^a	0.8860	0.0009 ^a	0.8927	0.0009 ^a	0.8912	0.0009 ^a	0.873
Ácido acético	Vinagre, pungente	60.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0057 ^a	0.0001	0.0118 ^b	0.0002	0.0135 ^b	0.0002	0.0239 ^c	0.0004
Acetoína	Mantequilla	8.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0389 ^a	0.0049	0.0257 ^a	0.0032	0.3637 ^a	0.0455	0.1099 ^a	0.0137
Ácido propiónico	Queso, mantequilla rancios	0.89	(Parker <i>et al.</i> , 2012)	0.0481 ^a	0.0541	0.0934 ^a	0.1049	0.0915 ^a	0.1028	0.0734 ^a	0.0824
Furfural	Almendra, caramelo	0.357	(AIHA, 2003)	0.0149 ^a	0.0417	0.0148 ^a	0.0416	0.0147 ^{ab}	0.0412	0.0142 ^b	0.0397
Decanal	Piel de cítrico	0.01	(Siek <i>et al.</i> , 1971)	0.0057 ^a	0.5693	0.0072 ^a	0.7157	0.0062 ^a	0.6217	0.0060 ^a	0.5951
Butiraldehído	Verde, plátano natural	2.54	(AIHA, 2003)	0.0034 ^a	0.0013	0.0017 ^a	0.0007	0.0028 ^a	0.0011	0.0020 ^a	0.0008
Ácido butírico	Queso rancio, agrio	1.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0597 ^a	0.0597	0.0588 ^a	0.0588	0.0632 ^{ab}	0.0632	0.0656 ^b	0.0656
Ácido isovaleriánico	Queso rancio, acre	0.25	(Qian and Wang, 2005)	0.0381 ^a	0.1524	0.0394 ^b	0.1578	0.0397 ^b	0.1588	0.0399 ^b	0.1595
Ácido valérico	Corteza de queso, butírico	0.075	(Parker <i>et al.</i> , 2012)	0.0472 ^a	0.6299	0.0471 ^a	0.6285	0.0462 ^a	0.6166	0.0453 ^a	0.6040
Ácido caprónico	Queso, grasa rancios	1.0	(Qian and Wang, 2005)	0.0126 ^a	0.0126	0.0132 ^a	0.0132	0.0136 ^a	0.0136	0.0147 ^a	0.0147
Laurato de etilo	Microbital, afrutado, ron	3.5	(Qian and Wang, 2005)	0.0031 ^a	0.0009	0.0030 ^a	0.0009	0.0029 ^a	0.0008	0.0023 ^a	0.0006
Ácido caprílico	Cabra, agrio, grasoso	0.91	(Qian and Wang, 2005)	0.0013 ^a	0.0014	0.0027 ^a	0.0029	0.0033 ^a	0.0036	0.0043 ^a	0.0048
Ácido láctico	Ciruela pasa, caramelo	---	---	0.0283 ^a	---	0.0127 ^{ab}	---	0.0123 ^{ab}	---	0.0029 ^b	---
δ-decalactona	Afrutado, nuez, caramelo	0.4	(Kubícková and Grosch, 1998)	0.0109 ^a	0.0272	0.0225 ^a	0.0563	0.0266 ^a	0.0665	0.0330 ^a	0.0826
Sulfuro	Nata, lácteo, judía	10.0	(Cheetham, 2010)	0.0047 ^a	0.0005	0.0047 ^a	0.0005	0.0077 ^{ab}	0.0008	0.0087 ^b	0.0009
γ-dodecalactona	Durazno, cremoso	0.3	(Siek <i>et al.</i> , 1971)	0.0070 ^a	0.0235	0.0224 ^{ab}	0.0747	0.0230 ^{ab}	0.0765	0.0340 ^b	0.1135
δ-dodecalactona	Afrutado, oleoso	95.0	(Siek <i>et al.</i> , 1969)	0.0158 ^a	0.0002	0.0208 ^a	0.0002	0.0220 ^a	0.0002	0.0245 ^a	0.0003

3.6. Perfil sensorial del queso Oaxaca

3.6.1. Quesos experimentales

El perfil sensorial para el queso Oaxaca se desarrolló con base a la técnica “La voz del producto” desarrollada por Pentasensorial S.A. de C.V. En esta técnica, cada atributo sensorial debe ser definido en función de cinco características: Nombre, Definición, Referencia, Protocolo y Escala. El nombre indica la denominación con la que se designará al atributo; la definición, en qué consiste; el protocolo, enuncia la manera en que debe ser evaluado; la referencia, es una muestra o grupo de muestras de comparación que permitirán anclar intensidades; y la escala, indica el mecanismo de medición. De este modo, es posible identificar, definir, discriminar y cuantificar de manera objetiva cualquier atributo dentro de un perfil sensorial.

El perfil sensorial obtenido a partir de los quesos Oaxaca experimentales consta de 32 atributos (Tabla 41). Se generó a partir de cuatro fases de evaluación: visual, táctil, olfativa y bucal de acuerdo a los sentidos que intervienen en la percepción del atributo. Así, se definieron 3 atributos visuales, 4 táctiles, 7 olfativos y 18 bucales, así se puede establecer que el mayor número de atributos sensoriales del queso Oaxaca se perciben y caracterizan en la fase bucal.

Los cambios en la calidad sensorial del queso Oaxaca durante su almacenamiento se muestran en la Tabla 43. Los días 1, 8, 15 y 22 representan el tiempo en el que los quesos fueron evaluados después de su elaboración. Se muestran los valores de P-value obtenidos de un análisis de varianza realizado con un modelo pseudomixed de 3 factores (muestras, jueces, repeticiones) y 2 vías (muestras, jueces) con un nivel de significancia 0.05. En estos datos se observa una gran variabilidad sensorial entre los quesos, ya que 23 atributos son discriminantes en el día 1. Esta variación cambió respecto al tiempo, reduciéndose ligeramente en el día 8 y 15 (21 y 18 atributos discriminantes, respectivamente) y aumentando nuevamente en el día 22 (22 atributos discriminantes).

Existen atributos que mantienen su variabilidad durante todo el tiempo de almacenamiento, como son los atributos visuales (*amarillo pálido, brillante y húmedo*) y de textura (*Firme, masticable, fibroso, rechinante y elástico*); mientras otros dejan de ser discriminantes al final del almacenamiento, por ejemplo, los atributos aromáticos (*butírico, diacetilo*) y de textura (*adherente*). Por otro lado, de los atributos no discriminantes, tres (*láctico cocido* olfativo, *vaca bucal, húmedo bucal*) se vuelven discriminantes al final del tiempo de almacenamiento; mientras que los otros seis, (*caramélico* olfativo, *diacetilo* olfativo, *láctico afrutado* olfativo, *láctico cocido bucal, grasoso bucal y grasoso táctil*) permanecen como no discriminantes.

Estas modificaciones denotan cambios importantes en el queso durante su almacenamiento, los cuales, se atribuyen principalmente a la actividad microbiana y enzimática que actúa sobre los componentes del queso durante el almacenamiento.

Tabla 41.Voz del producto para el perfil sensorial del queso Oaxaca.

FASE VISUAL					
Característica	Nombre	Definición	Referencia	Protocolo	Escala
Color	Amarillo pálido	Apreciación del matiz, brillo e intensidad que presenta el queso.	Pantone 1205C (5)	Evaluar sobre el queso completo, observando la muestra bien iluminada. Identificar color representativo.	0 – Ausencia 1 – Blanco total 9 – Amarillo total
Superficie	Brillante	Apreciación de la luz que refleja la superficie del queso.	Queso fresco “Aguascalientes” (7.5)	Evaluar sobre el queso completo, observando la muestra bien iluminada. Identificar las características de la superficie.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Húmedo	Apreciación relativa a la cantidad de agua que se observa en la superficie del queso.	Queso panela “Esmeralda” (9)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima correspondencia 9 – Máxima correspondencia
FASE TÁCTIL					
Característica	Nombre	Definición	Referencia	Protocolo	Escala
Texturas manuales	Húmedo	Percepción de la presencia de agua en el queso.	Queso panela “Esmeralda” (8)	Colocar la muestra de queso en forma plana, pasar el dedo índice sobre la muestra, denotar el carácter mojado de este contacto.	0 – Ausencia 1 – Mínima percepción 9 – Máxima percepción
	Grasoso	Percepción de presencia de grasa en el queso.	Mantequilla “La Gloria” (9)	Colocar la muestra de queso en forma plana, pasar delicadamente el dedo índice sobre la muestra, denotar el carácter graso de este contacto.	0 – Ausencia 1 – Mínima percepción 9 – Máxima percepción
	Elástico	Percepción de la capacidad de recuperación de forma y extensión del queso una vez que cesa la fuerza que lo alteró.	Gomitas de grenetina “Panditas” (8)	Colocar la muestra entre los dedos índice y pulgar, presionarla y evaluar el grado de recuperación instantánea de la muestra a su forma inicial desde que se suprime la presión.	0 – Ausencia 1 – Mínima elasticidad 9 – Máxima elasticidad
	Deshebrable	Capacidad que presenta el queso de deshacerse en pequeñas hebras	Pechuga de pollo cocida (8)	Tomar la muestra entre los dedos de ambas manos y jalarla horizontalmente hasta separarla en hebras.	0 – Ausencia 1 – Mínima capacidad 9 – Máxima capacidad
FASE OLFATIVA					
Característica	Nombre	Definición	Referencia	Protocolo	Escala
Aromáticos	Láctico acidificado	Intensidad orthonasal de la nota aromática de la leche acidificada presente en la muestra de queso.	Leche acidificada con Kéfir (8)	Romper la muestra en dos por el centro, aspirar inmediatamente el olor por encima de la rotura para reconocer, nombrar y cuantificar los estímulos olfativos presentes.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Láctico cocido	Intensidad orthonasal de la nota aromática de la leche cocida presente en la muestra de queso.	Leche hervida (9)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Butírico	Intensidad orthonasal de la nota aromática de ácido butírico presente en la muestra de queso.	Rufles de queso (4).	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad

Característica	Nombre	Definición	Referencia	Protocolo	Escala
Aromáticos	Caramélico	Intensidad orthonasal de la nota aromática de abizcochado presente en la muestra de queso.	Leche condensada (6)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Vaca	Intensidad orthonasal de la nota aromática de vaca presente en la muestra de queso.	Vaca en pie (9)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Diacetilo	Intensidad orthonasal de la nota aromática del diacetilo presente en la muestra de queso.	Palomitas Mantequilla Act II (9).	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Láctico afrutado	Intensidad orthonasal de la nota aromática generada por lactonas presente en la muestra de queso.	Alpura de durazno (8)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
FASE BUCAL					
Característica	Nombre	Definición	Referencia	Protocolo	Escala
Aromáticos	Láctico cocido	Intensidad retronasal de la nota aromática de la leche cocida presente en la muestra de queso.	Leche hervida (9)	Masticar la muestra durante varios segundos; luego, sin dejar de masticar, se libera el aire por la nariz a rachas con la boca cerrada, posteriormente reconocer, nombrar y cuantificar los estímulos olfativos presentes.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Butírico	Intensidad retronasal de la nota aromática de ácido butírico presente en la muestra de queso.	Rufles queso (8)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Caramélico	Intensidad retronasal de la nota aromática de caramelo suave presente en la muestra de queso.	Chongos zamoranos (8)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Vaca	Intensidad retronasal de la nota aromática de vaca presente en la muestra de queso.	Vaca en pie (9)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Diacetilo	Intensidad retronasal de la nota aromática del diacetilo presente en la muestra de queso.	Rufles queso (5)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Láctico acidificado	Intensidad retronasal de la nota aromática de la leche acidificada presente en la muestra de queso.	Leche acidificada con Kefir (9)	Mismo que el anterior.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
Gustos básicos	Dulce	Sensación del estímulo dulce percibido en la lengua.	Solución: 10 g de sacarosa disueltos en 330 mL de H ₂ O. (8)	Masticar la muestra y evaluar, con los receptores de la lengua, la intensidad del sabor dulce.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Salado	Sensación del estímulo salado percibido en la lengua.	Solución: 1.2 g de NaCl disueltos en 330 mL de H ₂ O. (6)	Masticar la muestra y evaluar, con los receptores de la lengua, la intensidad del sabor salado.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad

Característica	Nombre	Definición	Referencia	Protocolo	Escala
Gustos básicos	Ácido	Sensación del estímulo ácido percibido en la lengua.	Solución: 0.3 g de Ác. cítrico disueltos en 330 mL de H ₂ O. (9)	Masticar la muestra y evaluar, con los receptores de la lengua, la intensidad del sabor ácido.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
	Amargo	Sensación del estímulo amargo percibido en la lengua.	Solución: 0.05 g de quinina disueltos en 330 mL de H ₂ O. (9)	Masticar la muestra y evaluar, con los receptores de la lengua, la intensidad del sabor amargo.	0 – Ausencia 1 – Mínima intensidad 9 – Máxima intensidad
Texturas bucales	Firme	Propiedad relativa a la fuerza requerida para deformar el queso.	Queso manchego “Caperucita” (5)	Tomar una muestra intacta entre los dientes, apretar regularmente las mandíbulas y valorar la resistencia que presenta la muestra al iniciar la deformación.	0 – Ausencia 1 – Mínima firmeza 9 – Máxima firmeza
	Masticable	Propiedad relacionada con el número de masticaciones o tiempo necesario para dejar la muestra en las condiciones necesarias para su deglución.	Chongos Zamoranos “Herradura” (6)	Morder la muestra con las muelas y valorar el tiempo que se tarda o el número de masticaciones para dejarla en condiciones necesarias para su deglución.	0 – Ausencia 1 – Mínima masticabilidad 9 – Máxima masticabilidad
	Gomoso	Propiedad en la que la sensación bucal está relacionada con el esfuerzo requerido para reducir la muestra al estado necesario para su deglución.	Gomitas de grenetina “Panditas” (9)	Morder la muestra con las muelas y valorar el esfuerzo requerido para reducir la muestra al estado necesario para su deglución.	0 – Ausencia 1 – Mínima gomosidad 9 – Máxima gomosidad
	Adherente	Propiedad relativa al esfuerzo requerido para separar la superficie del queso de otra superficie (lengua, paladar, dientes, carrillos)	Queso doble crema “Esmeralda” (5)	Enjuagarse la boca inmediatamente antes de efectuar la prueba. Masticar la muestra (4 a 8 veces, según la salivación), apretándola posteriormente contra el paladar y medir la fuerza necesaria para que se desprenda completamente del paladar y los dientes.	0 – Ausencia 1 – Mínima adherencia 9 – Máxima adherencia
	Fibroso	Propiedad relativa a la facilidad de percepción de la forma y su naturaleza.	Piña natural (8)	Masticar la muestra hasta reducir a estado previo al bolo alimenticio y valorar en ese momento la facilidad con que se identifican la forma y naturaleza de partículas en contacto con la lengua, los carrillos y las encías.	0 – Ausencia 1 – Mínima percepción 9 – Máxima percepción
	Húmedo	Propiedad relativa a la percepción de la cantidad de agua absorbida o liberada por el queso.	Queso Panela “Esmeralda” (8)	Valorar el grado de humedad (cantidad de agua liberada por el queso), percibido en la boca durante toda la caracterización de la textura.	0 – Ausencia 1 – Mínima percepción 9 – Máxima percepción
	Grasoso	Propiedad relativa a la percepción de la cantidad o tipo de grasa contenida en el queso	Mantequilla “La Gloria” (9)	Masticar la muestra y valorar la percepción de la cantidad y tipo de grasa (aceite absorbido, grasa exudada).	0 – Ausencia 1 – Mínima percepción 9 – Máxima percepción
	Rechinante	Sensación auditiva del tipo tapón de corcho.	Chongos Zamoranos “Herradura” (8)	Masticar la muestra y valorar la sensación rechinante, así como su intensidad.	0 – Ausencia 1 – Mínima sensación 9 – Máxima sensación

Tabla 42. P-valores obtenidos para las intensidades percibidas en los quesos Oaxaca experimentales mediante ANOVA con pseudomixed model de 3 factores y 2 vías ($p \leq 0.05$) durante el almacenamiento.

Fase	Atributo	P-valores			
		Día 1	Día 8	Día 15	Día 22
Visual	Amarillo pálido	3.43e-07 *	8.75e-07 *	1.74e-05 *	0.0454 *
	Brillante	0.00013 *	0.032 *	0.0181 *	0.00026 *
	Húmedo	4.03e-05 *	6.39e-05 *	0.012 *	0.00102 *
Olfativa	Láctico acidificado	0.0004 *	0.0007 *	0.015 *	0.00403 *
	Láctico cocido	0.316	0.363	0.285	0.00082 *
	Butírico	0.00696 *	0.0095 *	0.537	0.0861
	Caramélico	0.228	0.147	0.61	0.527
	Vaca	4.87e-05 *	0.0018 *	0.0895	6e-04 *
	Diacetilo	0.137	0.225	0.116	0.079
	Láctico afrutado	0.0779	0.0038 *	0.44	0.763
	Láctico cocido	0.0513	0.0278 *	0.525	0.0731
Bucal	Butírico	0.00193 *	0.0078 *	0.00283 *	0.191
	Caramélico	0.00309 *	0.0048 *	0.179	0.0429 *
	Vaca	0.0601	0.0576	0.322	0.0288 *
	Diacetilo	0.0201 *	0.0786	0.00441 *	0.206
	Láctico acidificado	0.00328 *	0.0739	0.00276 *	0.0242 *
	Dulce	0.00162 *	0.0046 *	0.0418 *	0.011 *
	Salado	3.91e-06 *	1.41e-05 *	0.00051 *	0.00854 *
	Ácido	0.00046 *	0.0002 *	0.00682 *	0.00982 *
	Amargo	0.0027 *	0.0563	0.0524	0.0166 *
	Firme	3.85e-10 *	7.02e-07 *	1.28e-06 *	2.31e-07 *
	Masticable	5.02e-08 *	5.08e-07 *	0.000108 *	2.35e-07 *
	Gomoso	3.88e-09 *	2.06e-07 *	3.81e-06 *	1.17e-06 *
	Adherente	0.00079 *	0.0405 *	0.0221 *	0.108
	Fibroso	2.23e-06 *	2.89e-05 *	4.34e-05 *	0.0014 *
	Húmedo	0.564	0.139	0.549	0.00529 *
	Grasoso	0.158	0.16	0.382	0.52
	Rechinante	7.37e-07 *	1.97e-05 *	8.81e-06 *	4.8e-05 *
Táctil	Húmedo	2.64e-05 *	0.0002 *	0.18	0.00027 *
	Grasoso	0.801	0.0791	0.444	0.563
	Elástico	5.26e-06 *	0.0003 *	0.00016 *	0.00026 *
	Deshebrable	0.000782 *	0.235	0.0181 *	0.00070 *

* Indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los atributos de los quesos para cada uno de los días de evaluación.

El análisis LSD (Least significant difference) realizado entre días de evaluación (tabla 43) mostró que no se percibe diferencia significativa entre los días 1 y 8 ni entre los días 15 y 22; pero sí, entre los días 1 y 15, y los días 8 y 22.

Las intensidades fueron determinadas mediante una escala de diez puntos en la que el valor 0 equivale a “No perceptible”; 1, a “Mínima intensidad” y 9 a “Máxima intensidad” pudiendo evaluar la percepción de cada atributo como de baja intensidad (0 a 3); intensidad media (3 a 6) y alta intensidad (6 a 9). De manera general se observa que las intensidades de los atributos sensoriales disminuyen respecto al tiempo partiendo de una intensidad media-alta hasta una intensidad baja-media.

Tabla 43. Análisis LSD en la intensidad de los atributos sensoriales respecto al tiempo en los quesos experimentales.

Fase	Atributo	QC				QM				QT			
		Día 1	Día 8	Día 15	Día 22	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22
Visual	Amarillo pálido	4.10a	3.95a	3.84a	3.82a	3.01a	3.33ab	3.04a	3.78b	2.48a	2.94ab	2.77a	3.36b
	Brillante	5.83c	5.12bc	4.99b	4.21a	5.68c	4.22b	4.49b	2.42a	6.62c	5.60b	5.79b	4.17a
	Húmedo	5.59b	4.46a	4.02a	3.53a	5.00c	3.37b	3.23b	1.70a	7.74c	5.27b	5.14b	2.97a
Olfativa	Láctico acidificado	5.41b	4.01a	3.47a	3.32a	3.45b	2.67b	2.94b	1.65a	2.80b	2.27ab	2.26ab	1.71a
	Láctico cocido	4.07a	4.06a	4.44a	3.64a	4.77b	3.83ab	3.69a	3.06a	4.45b	3.55ab	3.87b	2.49a
	Butírico	4.07b	3.07a	2.77a	2.44a	1.96a	2.16ab	2.63b	1.97a	2.71a	2.30a	2.51a	1.99a
	Caramélico	3.35c	2.54ab	2.21a	2.00a	4.04c	2.76b	2.38ab	1.89a	3.12b	2.27a	2.07a	1.58a
	Vaca	5.17b	3.81a	3.42a	3.02a	2.27a	2.17a	2.51a	1.70a	3.76b	2.73b	2.76b	1.49a
	Diacetilo	4.11a	3.85a	4.12a	3.44a	3.01ab	3.29ab	3.96c	2.67a	3.12a	3.09a	3.16a	2.87a
	Láctico afrutado	3.25b	2.43ab	2.44ab	1.62a	4.88c	3.10b	2.97b	1.62a	3.34b	2.52b	2.97b	1.35a
Bucal	Láctico cocido	5.62b	4.76ab	4.73ab	4.14a	4.18a	4.04a	4.51a	3.55a	4.08a	3.77a	4.17a	3.01a
	Butírico	4.15a	4.28a	4.82a	3.82a	3.36a	3.54a	3.78a	3.25a	2.56a	2.89a	3.04a	2.89a
	Caramélico	4.78b	3.40a	2.64a	2.73a	3.21b	2.46ab	2.15ab	2.10a	2.62ab	2.08b	1.99ab	1.50a
	Vaca	4.84a	4.12a	3.82a	3.88a	3.45a	3.43a	3.52a	3.20a	3.22a	3.12a	2.84a	3.24a
	Diacetilo	3.07a	2.87a	3.21a	2.44a	2.93b	2.53ab	2.56ab	2.05a	2.21a	2.06a	2.09a	1.90a
	Láctico acidificado	2.97a	2.53a	2.41a	2.23a	4.26a	3.96a	4.15a	3.63a	3.27b	2.76ab	2.04a	2.89b
	Dulce	4.13b	3.16ab	2.55a	2.66a	2.93a	2.38a	2.05a	2.03aa	2.08a	1.81a	1.50a	1.68a
	Salado	3.57b	3.03ab	2.95a	2.48a	2.84a	2.61a	2.74a	2.10a	1.46a	1.42a	1.18a	1.50a
	Ácido	2.85a	2.54a	2.34a	2.23a	4.77a	4.44a	4.55a	3.98a	2.85a	2.84a	2.24a	3.24a
	Amargo	1.14a	1.49a	1.56a	1.90a	1.92a	2.46a	2.53a	2.91a	1.71ab	2.45ab	2.62a	3.00b
	Firme	6.08b	5.49ab	5.49ab	4.92a	3.83b	3.29ab	2.89a	2.96a	4.36b	3.86ab	3.77ab	3.37a
	Masticable	6.34b	5.74ab	5.71ab	5.07a	3.43a	3.09a	2.97a	2.77a	4.79b	4.17ab	2.97ab	3.47a
	Gomoso	6.38b	5.85b	6.22b	4.98a	3.08a	2.51a	2.34a	2.28a	4.12b	3.64ab	3.76ab	2.94a
	Adherente	2.87a	2.95a	3.05a	2.61a	3.83a	3.82a	4.18a	3.22a	3.76a	3.42a	3.22a	3.03a
	Fibroso	6.16b	5.50b	5.71b	4.40a	3.37b	2.60ab	2.20a	2.21a	4.92b	3.83a	3.37a	3.02a
	Húmedo	4.19a	3.83a	3.61a	3.31a	5.01c	3.78b	3.57b	2.57a	5.53c	4.11b	4.02b	2.82a
Grasoso	3.86a	3.59a	3.65a	2.95a	4.41a	3.99a	3.94a	3.34a	3.44a	3.37a	3.41a	3.19a	
Rechinante	6.70b	5.82b	6.41b	4.45a	2.90a	2.43a	2.70a	1.78a	3.92b	3.21ab	3.43b	2.19a	
Táctil	Húmedo	4.05b	3.44ab	3.51ab	2.86a	4.77c	2.95b	3.03b	1.36a	7.25c	4.43b	3.86b	2.20a
	Grasoso	5.13b	4.25ab	3.97a	3.73a	5.45b	4.48ab	4.53ab	3.39a	4.50a	4.33a	4.75a	3.78a
	Elástico	6.32b	5.63ab	5.75ab	4.96a	3.04a	2.58a	2.35a	2.43a	4.17b	3.60ab	3.67ab	3.03a
	Deshebrable	5.79a	5.89a	6.05a	5.49a	5.87c	4.56b	4.36b	3.18a	5.34b	4.52ab	4.03a	3.99a

Letras diferentes (a,b,c) junto al valor de intensidad denotan diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los días de evaluación en cada queso.

QC: queso elaborado con leche cruda; QM: queso elaborado con leche pasteurizada y cultivo mesofílico; QT: queso elaborado con leche pasteurizada y cultivo termofílico.

En la fase visual se evaluaron los atributos “*amarillo pálido*”, “*brillante*” y “*húmedo*”. El queso QC fue el que se denotó como el más amarillo, mientras que el queso QT como el de aspecto más húmedo y brillante, debido a su mayor contenido de humedad.

El color característico del queso se debe al efecto de dispersión de la luz que causan los glóbulos de grasa, las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal, aunque también contribuye la presencia de carotenos y riboflavina (Mortensen et al. 2003; Kristensen et al. 2001). En este estudio, el queso con menor tonalidad amarilla fue QT cuyo contenido de grasa y proteína es menor. De este modo se puede asumir que los quesos con menor humedad y mayor contenido de grasa y proteína tenderán a tener tonalidades más amarillas. Asimismo, los resultados muestran que los quesos QM y QT tienen un aumento significativo en el tono del color amarillo.

Los atributos que describieron el olor en los quesos Oaxaca experimentales fueron “*láctico acidificado*”, “*Láctico cocido*”, “*Butírico*”, “*Caramélico*”, “*Vaca*”, “*Diacetilo*” y “*Láctico afrutado*”. En los tres quesos se observa que la intensidad de los atributos aromáticos cambia significativamente en el tiempo, particularmente entre los días 15 y 22.

Las mayores intensidades en los atributos de olor se encontraron en el queso QC, después en el queso QM y finalmente en el queso QT, excepto en los atributos “*láctico cocido*” y “*caramélico*”, lo cual resulta lógico, pues QC se elabora con leche cruda.

Un atributo aromático particular del queso Oaxaca es “*láctico afrutado*” en el que se denotan notas de durazno y fresa que se deben a la generación de lactonas como parte del metabolismo de los ácidos grasos por parte de las BAL. QM fue el que presentó mayor intensidad en este atributo por lo que se asume que *Lactococcus lactis ssp lactis* posee mayor capacidad de generación de estos compuestos. El atributo “*láctico afrutado*” no es fácil de distinguir en los quesos, de hecho, para la mayoría de los consumidores pasa desapercibido; sin embargo, una vez que se detecta se puede fácilmente discriminar del resto de los atributos aromáticos durante toda la vida útil a pesar de que hay una reducción significativa en su intensidad. El hecho de que no pueda ser identificado fácilmente se debe a que, a pesar de que la concentración de lactonas es similar a la del diacetilo o el ácido butírico (Tabla 37), su OAV es menor que el de los citados compuestos (Tablas 38, 39 y 40).

Las variaciones en el olor y el aroma pueden entenderse como resultado de un complejo equilibrio entre los compuestos químicos volátiles y no volátiles (Fox y Wallace, 1997; Plutowska y Wardencki, 2007). La mayoría de los compuestos aromáticos de los quesos se forman durante la fermentación y maduración. Las principales vías para la formación de los compuestos volátiles son: 1) el metabolismo de la lactosa, 2) la lipólisis y 3) la proteólisis (Molimard y Spinnler, 1996). La primera vía comprende el gusto ácido del queso, relacionado con su pH (Gallardo-Escamilla et al., 2005). También incluye el olor a mantequilla, que viene

dato principalmente por el diacetilo (2,3-butanodiona) (Villaseñor *et al.*, 2000), al que se considera como el principal compuesto aromático de la leche fermentada y queso fresco (Molimard y Spinnler, 1996; Curioni y Bosset, 2002; Garde *et al.*, 2005). Este compuesto se forma en el queso por el metabolismo microbiano. Los lactococos producen principalmente diacetilo, además de acetato, 2,3-butanodiol y acetoína (Mäyrä-Mäkinen and Bigret 2004; Randazzo *et al.* 2006), mientras que los estreptococos sintetizan principalmente acetaldehído y en proporciones inferiores diacetilo y acetona (Tamime and Robinson, 1999). La segunda vía genera compuestos derivados de la grasa formados por la lipólisis y las reacciones de oxidación de los lípidos, tales como los ácidos grasos libres, los ésteres, las lactonas y las cetonas, con umbrales de percepción olfativa muy bajos (Siek *et al.*, 1971; Kinsella, 1975). Por último, la proteólisis proporciona una gama de péptidos y aminoácidos libres, lo que probablemente contribuye al gusto de la mayoría de las variedades de queso.

Para describir el aroma en los quesos experimentales se definieron los atributos “*láctico cocido*”, “*butírico*”, “*caramélico*”, “*vaca*”, “*diacetilo*” y “*láctico acidificado*”. El queso QC presentó las mayores intensidades en estos atributos, incluidos los dos atributos asociados a procesos térmicos (“*cocido*” y “*caramélico*”), para lo cual no se tiene una explicación lógica. Un hecho relevante en este grupo de atributos es que existe una menor variación del aroma respecto al olor para los atributos “*butírico*”, “*caramélico*”, “*vaca*”, “*diacetilo*” y “*láctico acidificado*” posiblemente debido a que los compuestos volátiles responsables se liberan de la matriz del queso a grandes concentraciones durante la masticación. Otro contraste interesante se observa en el atributo “*láctico acidificado*” que en la fase bucal mostró mayor intensidad en los quesos QM y QT, lo cual se puede inferir ya que no todos los ácidos orgánicos que lo generan son volátiles; sin embargo, al solubilizarse con la saliva y hacer contacto con las papilas gustativas, estos pueden percibirse.

El atributo “*vaca*” se ha empleado para describir el sabor y el aroma de quesos elaborados con leche cruda y se asocia a la presencia de p-cresol (Kilcawley *et al.*, 2018), aunque no se ha dilucidado por completo el origen de este compuesto en los quesos. Como era de esperar la mayor intensidad de este atributo la tiene el queso QC, y solamente presenta diferencia significativa a lo largo del tiempo en el olor del queso QT, por lo que se puede decir que el olor y aroma “*vaca*” es muy estable en el queso Oaxaca, independientemente de si se elabora con leche cruda o leche pasteurizada.

Villanueva-Carbajal *et al.*, (2012) estudiaron las características sensoriales del queso Oaxaca recién elaborado, describieron el sabor del queso como “a leche ácida”, “a mantequilla”, “a nata”, “a establo”, “a moho”, “a grasa” y “a leche pasteurizada”. Por lo tanto, se observa cierta coincidencia entre los descriptores empleados en el presente estudio y los empleados por estos autores. A su vez, los descriptores de ambos trabajos, muestran coincidencia con los atributos empleados por Pagliarini *et al.* (1997) y Gasperi *et al.* (2000) para describir el sabor del queso Mozzarella italiano: “leche”, “nata”, “yogur”, “agrio” y “aceituna”.

Los siguientes atributos definidos en la fase bucal fueron los cuatro gustos básicos: “ácido”, “salado”, “dulce” y “amargo”. De manera general, los quesos tuvieron una mayor intensidad del atributo “dulce” al inicio del almacenamiento, posiblemente debido a una mayor cantidad de lactosa que no ha sido utilizada aún por los microorganismos. A pesar de que se adicionó la misma concentración de sal en los tres quesos, se percibieron con diferente intensidad en el atributo “salado”. QC tuvo la mayor intensidad, en segundo lugar, se ubicó QM, mientras que QT fue evaluado como el de menor intensidad. Estas diferencias pueden explicarse a partir de la cantidad de suero exudado por los quesos después del salado pues, como se ha comentado anteriormente, un queso con mayor contenido de humedad tiende a expulsar una mayor cantidad de suero y junto con él, se elimina parte de la sal adicionada. Así, al ser QC el queso que pierde una mayor cantidad de agua, se entiende que sea el queso menos “salado”.

Uno de los atributos distintivos del queso Oaxaca es el gusto “ácido”, dicho atributo se debe principalmente a la producción de ácido láctico por parte de las BAL. Dependiendo del tipo de BAL que participen en la fermentación láctica, el queso puede contener diferentes cantidades de ácido láctico, siendo las bacterias homofermentativas las mayores generadoras de este compuesto. El queso que se percibió como más ácido fue QM, seguido de QT y finalmente QC, que coincide con el menor valor de pH. Se sabe que en el sentido del gusto existen ciertos sinergismos y antagonismos que afectan la percepción de los gustos básicos. Uno de ellos es el antagonismo dulce-ácido, en el cual existe una relación inversamente proporcional entre la percepción del gusto “ácido” y la concentración de azúcares presentes. Esto podría ser la explicación de que el queso QT sea percibido con menor intensidad de acidez que el queso QM. Por otro lado, se observó que la intensidad del atributo “ácido” disminuyó respecto al tiempo y, aunque no lo hizo de manera significativa, es un atributo discriminante entre los tres quesos durante todo el almacenamiento (Tabla 43). Esta disminución puede explicarse a partir de una reducción en la producción de ácido láctico por parte de las BAL como consecuencia de una menor disponibilidad de lactosa y azúcares fermentables.

En los tres quesos experimentales se detectó el gusto básico “amargo”, el cual incrementa gradualmente su intensidad, llegando a ser significativo en los quesos QM y QT al final del almacenamiento. El gusto amargo, se atribuye principalmente a la acumulación de péptidos que contienen prolina liberados de la caseína (Guinee y Kilcawley, 2004; Wadhvani y McMahon, 2012) ocasionada por las reacciones proteolíticas, catalizadas por los enzimas coagulantes o microbianas (Yazici *et al.*, 2010). Además de su influencia en el gusto, los aminoácidos libres son precursores importantes de compuestos volátiles formados por una serie de reacciones catabólicas (McSweeney y Sousa, 2000).

Como atributos de textura bucal se definieron: “firme”, “masticable”, “gomoso”, “adherente”, “fibroso”, “húmedo”, “grasoso” y “rechinante”. El queso percibido como el más húmedo en boca fue el queso QT, el más grasoso QM y en el resto de los atributos QC fue el que presentó

mayor intensidad. Los tres quesos presentan una disminución significativa en los atributos “firme”, “masticable”, “gomoso” y “rechinante”, lo cual se asocia a una pérdida de la estructura proteica como consecuencia de la proteólisis. Por otro lado, el atributo “adherente” no sufre cambios significativos en su intensidad durante el almacenamiento. De igual manera, “grasoso” tampoco sufrió cambios significativos, no así, “húmedo” que disminuyó significativamente en los quesos QM y QT. Estos resultados tienen coherencia con los resultados obtenidos mediante el TPA, en los que la firmeza, la cohesividad, gomosidad y elasticidad disminuyen y la adhesividad aumenta (Tabla 29).

Respecto a los atributos de textura táctil, se definieron: “húmedo”, “grasoso”, “elástico” y “deshebrable”. Todos, excepto deshebrable en el queso QC, disminuyeron significativamente durante el tiempo de almacenamiento. Debido a que la proteólisis es mayor en el queso QC, se esperaría que este queso fuera el que presentará una mayor pérdida de intensidad en los atributos relacionados con la firmeza; sin embargo, se observa una disminución semejante en los tres quesos.

Para poder visualizar de una mejor manera los resultados del perfil sensorial de los quesos experimentales, se elaboró para cada día de evaluación un Análisis de Componentes Principales (PCA) con matriz de covarianza.

En los gráficos de PCA presentados, los porcentajes indican la cantidad de información que se presenta en las dos dimensiones. Cada dimensión se compone de una combinación de características sensoriales. Las muestras que se encuentran cerca una de otra en el mapa son más similares. Las muestras que están ubicadas en la misma área que una flecha tienen una intensidad más fuerte de los atributos correspondientes. Las muestras ubicadas en posición opuesta a la flecha tienen una menor intensidad para ese atributo. La longitud de los vectores indica la intensidad del atributo correspondiente. Si los ángulos son similares en los vectores que representan a los atributos existe una alta correlación positiva entre ellos; si el ángulo es de 90 grados no existe correlación y si es de 180 grados hay una alta correlación negativa.

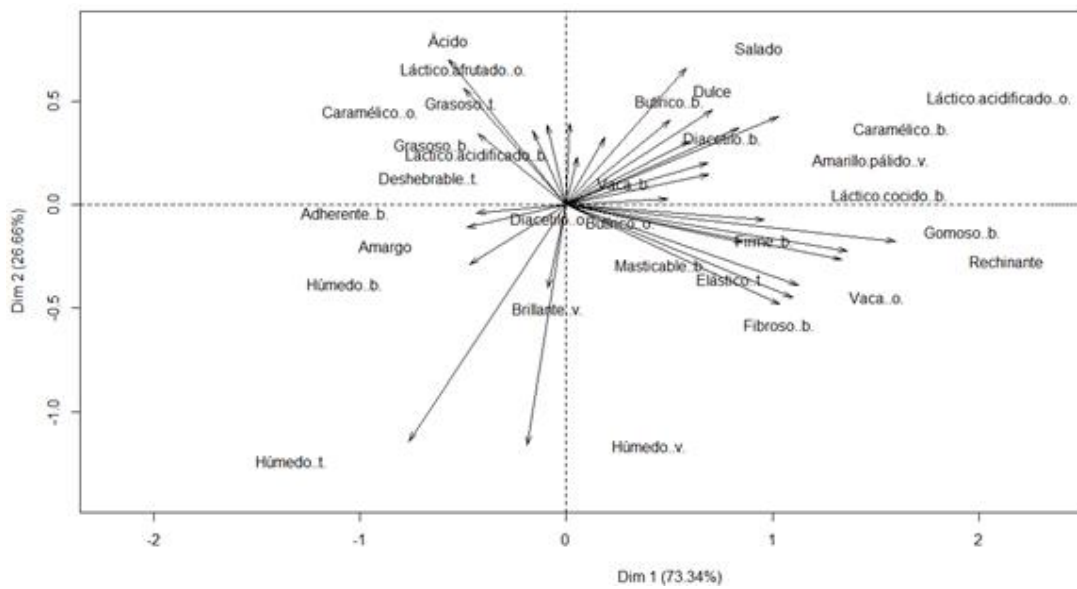
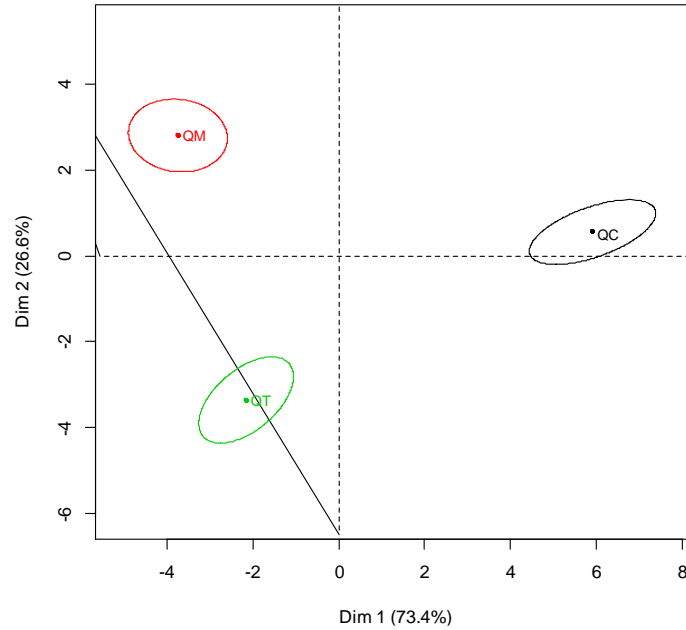


Figura 14. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos experimentales en el día 1.

Las muestras se encuentran circunscritas en elipses que representan el área de interacción que pueden llegar a tener con otras muestras, si las elipses se intersectan existe una gran similitud entre las muestras; por el contrario, entre más alejadas se ubiquen en el mapa, serán más diferentes. Al observar la ubicación de las muestras en el mapa del día 1 vemos que son fácilmente discriminantes una de la otra y se puede asumir que la dimensión 1 diferencia los quesos en función del tipo de leche usada (pasteurizada y cruda) y la dimensión 2 en función del tipo de cultivo empleado en la elaboración del queso. Por su ubicación en el mapa, el queso

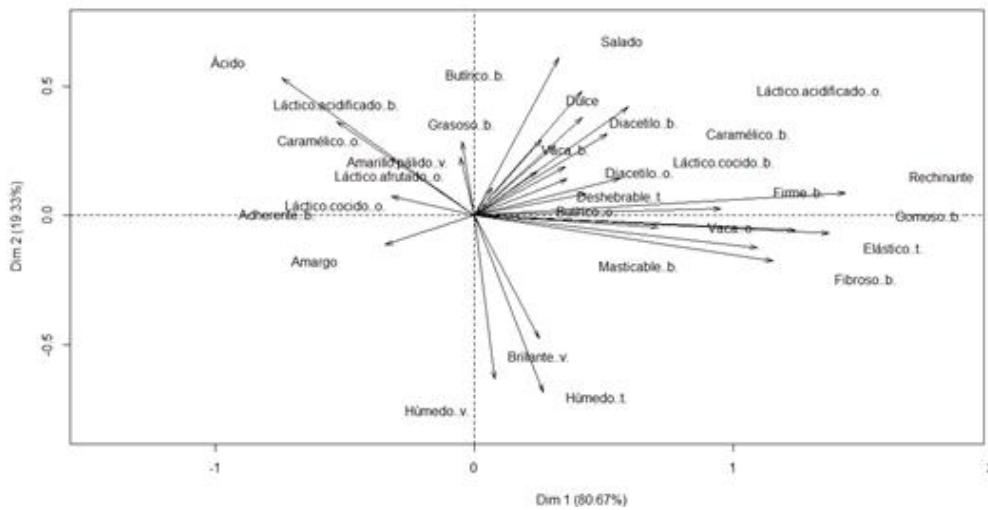
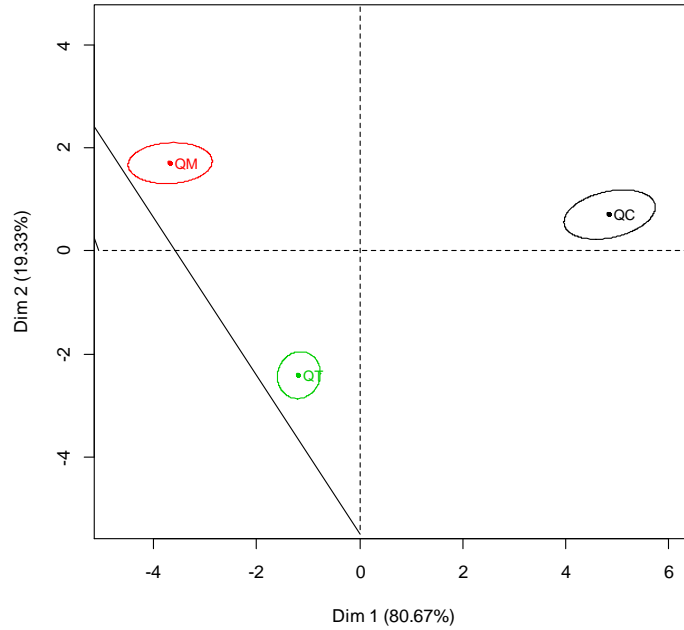


Figura 15. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos experimentales en el día 8.

QC se discrimina principalmente por los atributos *láctico acidificado*, *amarillo pálido*, *gomoso*, *rechinante*, *vaca bucal*, *fibroso*, *firme* y *salado*. Por su parte el queso QM está caracterizado por los atributos *ácido*, *láctico afrutado*, *caramélico olfativo*, *grasoso* y *deshebrable*; mientras que el queso QT por *húmedo*, *brillante*, *adherente* y *amargo*.

En el PCA obtenido el día 8 se observa que los quesos se acercan un poco respecto a la dimensión 2, lo que indica un cambio que asemeja a las muestras, sobre todo en los atributos que se ubican hacia el centro del mapa. También se observa una reducción en la longitud de los vectores, así como cambios en la posición, principalmente en los atributos *húmedo*, *grasoso* y *brillante*. Los tres quesos quedan tipificados sensorialmente de manera muy semejante que en el día 1.

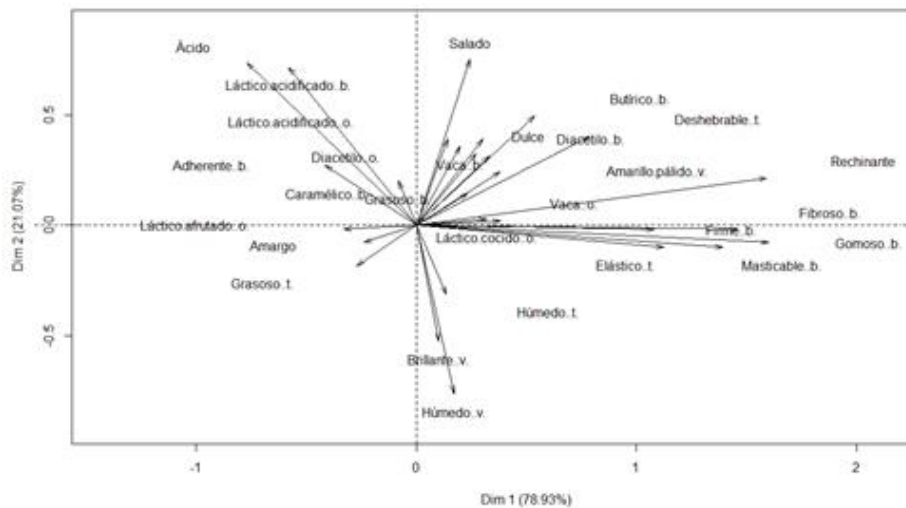
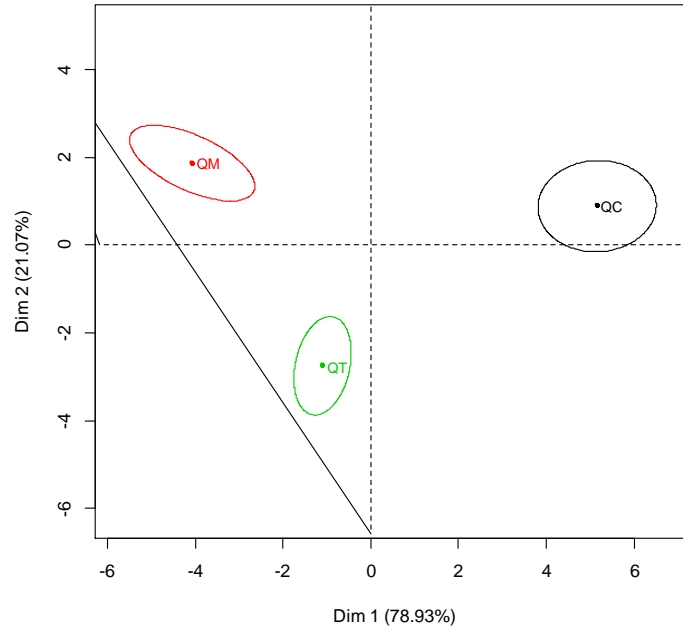


Figura 16. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos experimentales en el día 15.

Con el PCA obtenido en el día 15 se percibe que los cambios ocurridos en el queso entre el día 8 y el día 15 son mínimos, únicamente se presenta una ligera disminución en la intensidad de los atributos sensoriales, la ubicación de los quesos es prácticamente la misma que en el mapa del día 8. De esta forma se replica la descripción sensorial de los quesos. Esto se puede corroborar mediante los valores reportados en la Tabla 43, en donde se observa que la menor variación significativa se da entre los días 8 y 15.

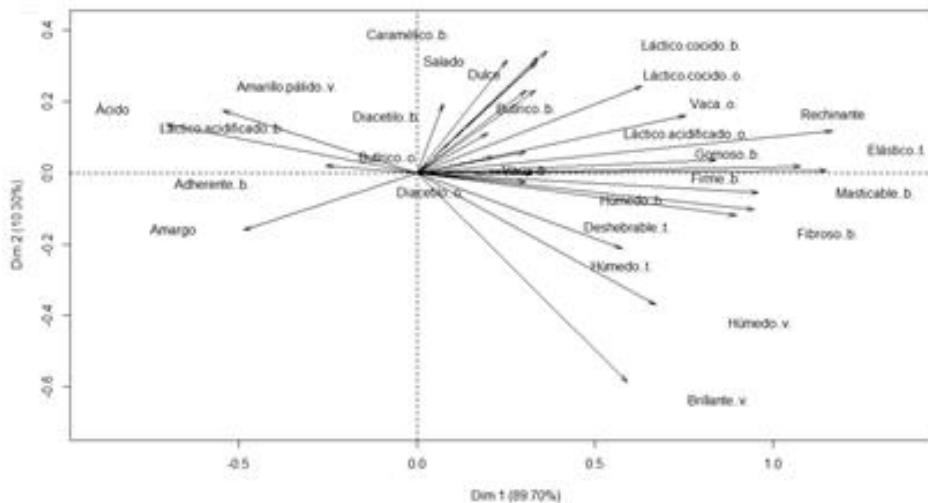
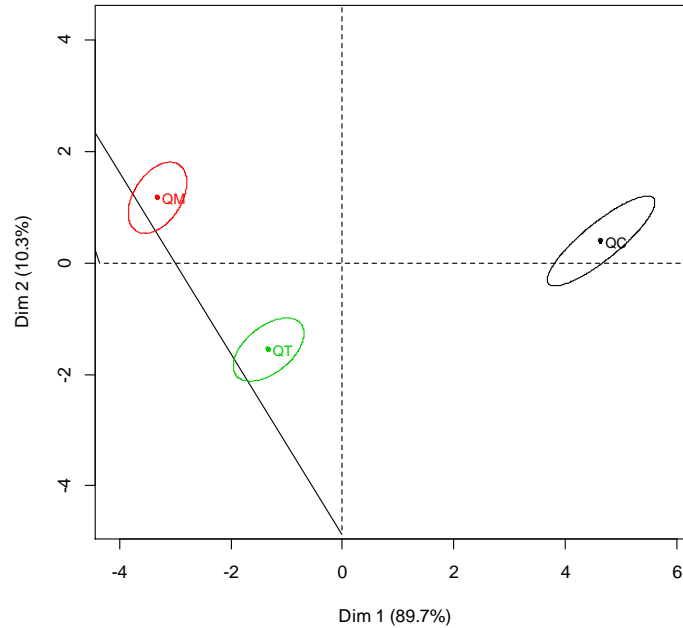


Figura 17. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos experimentales en el día 22.

En el día 22 se da la mayor proximidad entre las tres muestras de queso, lo que implica que al final del almacenamiento la intensidad de los atributos sensoriales es más semejante que las que presentan los quesos recién elaborados; sin embargo, siguen siendo discriminados por los jueces. En este mapa también se observan las menores longitudes en los vectores, lo que indica la disminución en la intensidad de todos los atributos que integran el perfil sensorial. Con el cambio en la ubicación de los atributos en el mapa en el día 22, el queso QC se caracteriza por los atributos *masticables*, *elástico*, *rechinante*, *húmedo*, *fibroso*, *firme*, *deshebrable* y *brillante*. El queso QM se tipifica por los atributos *amarillo pálido*, *láctico acidificado*, *ácido* y *diacetilo*. El queso QT quedó principalmente descrito por los atributos *adherente*, *amargo* y *láctico acidificado*.

3.6.2. Quesos artesanales

Los atributos discriminantes de los quesos artesanales se reportan en la Tabla 45, en la cual se indican los P-valores determinados mediante un análisis de varianza entre los quesos de las tres zonas queseras. En los quesos de Oaxaca se encontraron 20 atributos discriminantes, en los de Tulancingo, 17 y en los Aculco, 19. Destaca la variabilidad en los atributos visuales, de gustos básicos y de textura. Además, los atributos *láctico acidificado*, *diacetilo* y *butírico*, son discriminantes en los quesos de Oaxaca, lo cual puede deberse a la forma en que se acidifican estos quesos. Asimismo, resalta que el atributo *láctico cocido* es discriminante en los quesos de Aculco, debido a que algunos productores utilizan leche pasteurizada en su proceso.

Tabla 44. P-values obtenidos para las intensidades percibidas en los quesos artesanales mediante ANOVA con pseudomixed model de 3 factores y 2 vías ($p \leq 0.05$).

Fase	Atributo	Oaxaca	Tulancingo	Aculco
Visual	Amarillo pálido	7.31e-14 *	4.77e-15 *	6.27e-05 *
	Brillante	0.0051 *	3.83e-07 *	0.0040 *
	Húmedo	0.781	1.51e-09 *	9.76e-05 *
Olfativa	Láctico acidificado	0.0065 *	5.25e-08 *	0.0794
	Láctico cocido	0.409	0.105	0.0248 *
	Butírico	0.171	0.182	0.37
	Caramélico	0.449	0.69	0.312
	Vaca	0.0813	0.167	0.145
	Diacetilo	0.0254 *	0.121	0.292
	Láctico afrutado	0.196	0.516	0.987
Bucal	Láctico cocido	0.571	0.211	0.0052 *
	Butírico	0.0415 *	0.445	0.394
	Caramélico	0.546	0.235	0.118
	Vaca	0.228	0.363	0.36
	Diacetilo	0.0759	0.894	0.19
	Láctico acidificado	0.0081 *	0.0863	0.0002 *
	Dulce	0.0236 *	0.574	0.112
	Salado	1.04e-05 *	0.0113 *	0.296
	Ácido	0.0060 *	0.038 *	0.0025 *
	Amargo	0.0075 *	0.0225 *	0.0059 *
	Firme	4.2e-07 *	0.0044 *	0.0097 *
	Masticable	0.0001 *	1.47e-05 *	0.0002 *
	Gomoso	4.85e-05 *	1.14e-05 *	0.0016 *
	Adherente	0.0303 *	0.125	0.0317 *
	Fibroso	1.2e-06 *	1.11e-05 *	0.0009 *
Húmedo	0.0022 *	1.96e-07 *	2.31e-06 *	
Táctil	Grasoso	0.117	0.166	0.0138 *
	Rechinante	0.0004 *	0.0089 *	0.0189 *
	Húmedo	0.819	7.36e-11 *	1.21e-07 *
	Grasoso	0.0001 *	0.0122 *	0.314
	Elástico	0.0004 *	0.0077 *	0.0013 *
	Deshebrable	5.69e-05 *	1.22e-06 *	0.0012 *

* Indica diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los atributos de los quesos para cada uno de los días de evaluación.

Dada la alta variabilidad entre quesos y zonas de producción, es complicado establecer pautas generales que describan el comportamiento de los atributos sensoriales en todos los quesos; sin embargo, es posible establecer tendencias con base en la información obtenida de los análisis estadísticos aplicados para tal fin (LSD y PCA). A continuación, se desglosan y comentan los resultados obtenidos en cada zona de producción.

3.6.2.1. Quesillo de Reyes Etna, Oaxaca

El quesillo de Reyes Etna se caracteriza por preservar un proceso de elaboración netamente artesanal, en el cual únicamente se utiliza leche de vaca cruda, cuajo y sal. Algo peculiar de estos procesos es que la acidificación se lleva a cabo después de desuerar la cuajada. Además,

Tabla 45. Análisis LSD en la intensidad de los atributos sensoriales entre quesos artesanales de Reyes Etna, Oaxaca.

Fase	Atributo	QR1	QR2	QR3	QR4	QR5
Visual	Amarillo pálido	4.08ab	4.29a	1.89d	3.99b	3.28c
	Brillante	5.60a	4.51b	4.67b	4.54b	4.28b
	Húmedo	4.73a	4.36ab	4.26ab	4.15b	4.36ab
Olfativa	Láctico acidificado	2.77b	3.43b	4.35a	3.27b	4.60a
	Láctico cocido	3.39b	3.55ab	4.37a	3.88ab	4.10ab
	Butírico	1.80c	1.93bc	2.20ab	1.76c	2.50a
	Caramélico	2.45b	3.12a	2.86ab	2.90ab	2.75ab
	Vaca	3.60b	3.13b	3.46b	3.25b	4.24a
	Diacetilo	2.58bc	3.11ab	3.14a	2.49c	3.57a
	Láctico afrutado	2.14b	2.76a	2.77a	2.86a	2.37ab
Bucal	Láctico cocido	3.68a	3.56a	4.02a	3.59a	4.01a
	Butírico	3.35b	3.33b	3.22b	4.03a	4.45a
	Caramélico	2.47a	2.73a	2.41a	2.32a	2.71a
	Vaca	3.66ab	3.39b	3.31b	3.22b	4.15a
	Diacetilo	2.25b	2.34ab	2.11b	2.72ab	2.93a
	Láctico acidificado	3.11c	4.86a	3.66bc	3.67bc	4.09b
	Dulce	3.46a	3.21a	2.40b	3.09a	3.25a
	Salado	4.22b	3.71b	2.26c	5.17a	4.91a
	Ácido	3.32b	4.82a	3.48b	4.36a	4.29a
	Amargo	1.63b	2.43a	2.52a	1.83b	1.48b
	Firme	6.06a	4.64c	5.22b	4.89bc	3.67d
	Masticable	6.08a	5.17bc	5.35b	4.88c	4.37d
	Gomoso	5.36a	3.71c	4.97ab	4.42b	3.28c
	Adherente	2.24c	2.94ab	2.60bc	2.94ab	3.30a
	Fibroso	6.21a	4.79b	5.32b	5.01b	3.39c
	Húmedo	4.54b	4.21b	4.30b	4.60b	5.45a
	Grasoso	4.04a	3.90a	3.22b	3.99a	4.07a
Rechinante	5.52a	2.86d	4.09b	3.79bc	3.30cd	
Táctil	Húmedo	4.48a	4.27a	4.48a	4.85a	4.75a
	Grasoso	4.22a	4.51a	3.22b	4.31a	4.85a
	Elástico	5.72a	4.44b	5.72a	5.00b	3.65c
	Deshebrable	7.81a	6.46cd	7.27ab	6.05d	6.91bc

Letras diferentes (a,b,c) junto al valor de intensidad denotan diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los quesos en cada día de evaluación.

QR1 a QR5: indican en código de identificación de cada queso artesanal de Reyes Etna, Oaxaca.

los parámetros importantes del proceso (temperaturas, tiempos, pH, concentración de sal) no se controlan, sino que cada productor elabora el queso con base en su conocimiento empírico. Un aspecto relevante en la elaboración del queso QR2 fue que se sigue elaborando con cuajo natural (estomago de res, preparado con limón, sal y secado al sol). Estos quesos obtuvieron las calificaciones más altas en cuanto a atributos que describen el aspecto, siendo los más amarillos. En cuanto a olor y aroma en los quesillos predominan los atributos *láctico acidificado*, *vaca*, *láctico cocido*, *caramélico* y *butírico*. En gustos básicos, predominan lo salado y ácido, en menor intensidad se percibe lo dulce y de manera más tenue lo amargo. Los atributos *firme*, *masticable*, *gomoso*, *fibroso* y *rechinante* denotan tendencia hacia la parte media-alta de la escala ostentando valores entre 3 y 6.

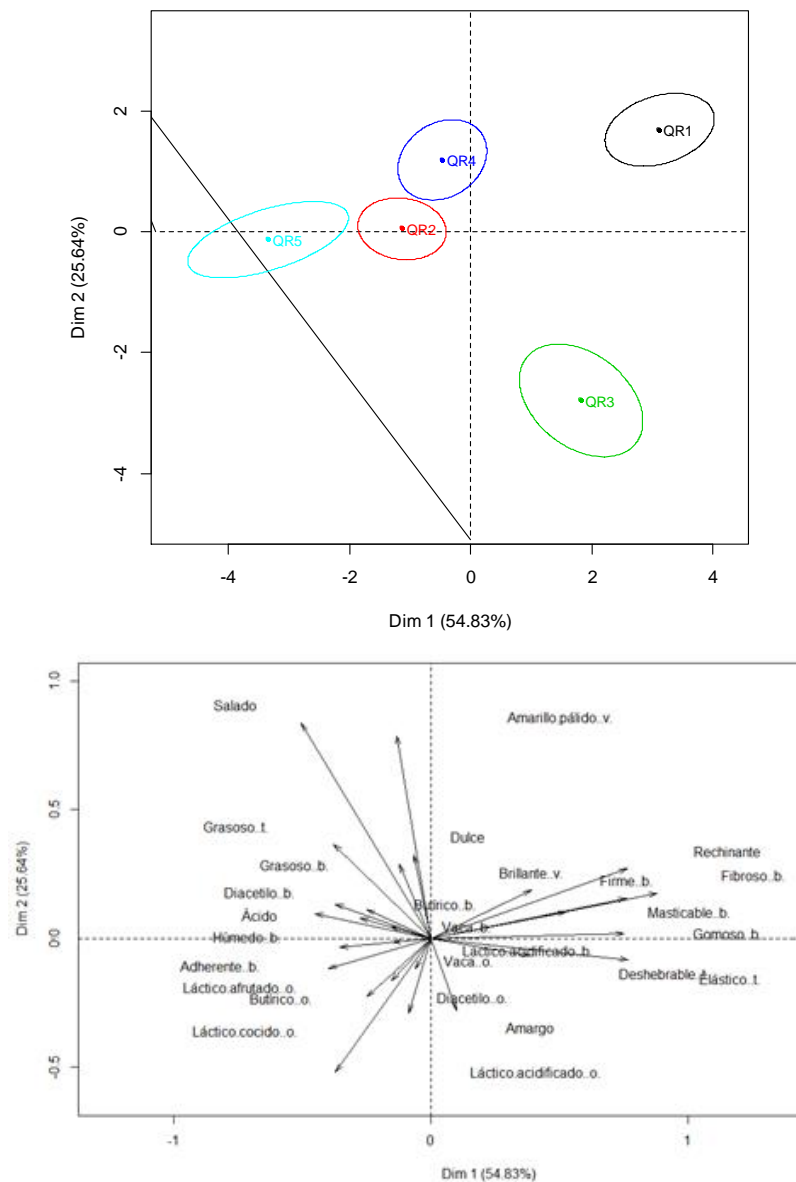


Figura 18. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos artesanales de Reyes Etlá, Oaxaca.

Al analizar los quesos de manera aislada se observa que todos los quesos son sensorialmente diferentes, con QR4, QR2 y QR5 como los más parecidos y QR3 y QR1 como los que difieren en mayor grado. QR4, QR2 y QR5 están caracterizados por los atributos *salado, grasoso, diacetilo, húmedo, ácido, láctico afrutado, láctico cocido y butírico*. QR1 tiende a ser más *firme, rechinante, masticable, fibroso, gomoso*; mientras QR3 tiene más acentuados los atributos *diacetilo, amargo, láctico acidificado, vaca y deshebrable*.

El PCA explica el 80.47 de la varianza en los primeros dos componentes por lo que se considera que es un modelo adecuado para describir las características sensoriales de los quesos.

3.6.2.2. Queso Oaxaca de Tulancingo, Hidalgo

Los quesos de Tulancingo se caracterizan porque son elaborados con procesos semiartesanales, pues existe un poco más de tecnificación que en los procesos de Oaxaca, algunos realizan controles de acidez y tiempo de acidificación, además de que cuentan con recipientes y mesas de acero inoxidable y distribución con cadena de frío. En cuatro de los cinco procesos muestreados se utiliza leche en polvo para aumentar el rendimiento y dos productores usan dióxido de titanio como agente blanqueador.

Al analizar el LSD (Tabla 46) y el PCA (figura 19) observamos que la mayoría de los atributos presentan una menor intensidad respecto a los quesos de Oaxaca; por ejemplo, se perciben con una apariencia ligeramente más blanca y muy similar en cuanto a brillo y aspecto húmedo. Los atributos aromáticos predominantes fueron *láctico acidificado, butírico, vaca y láctico cocido*. Los atributos de textura *firme, masticable, gomoso, fibroso y rechinante* fueron evaluados con calificaciones que tiende a 4, que al igual que en los quesos de Oaxaca implica una tendencia de media a alta, pero con menor intensidad. En cuanto a gustos básicos se perciben más ácidos que salados, poco dulces y ligeramente amargos.

En el análisis particular de estos quesos, se puede observar que existen más similitudes sensoriales; así, en el mapa las elipses de los quesos QT2 y QT3 se intersectan y se ubican muy cerca de QT4 y QT5. Estos cuatro quesos quedan principalmente definidos por los atributos *gomoso, deshebrable, masticable, elástico, diacetilo, butírico, vaca*; en menor grado por los atributos *caramélico, firme, láctico cocido* y casi no se perciben como *amargos, grasosos, ácidos ni adherentes*. El queso QT1 difiere indiscutiblemente de los otros cuatro quesos, pues al ubicarse hacia el lado opuesto queda descrito por los atributos *adherente, amarillo pálido, butírico bucal, grasoso y ácido*.

En este caso los primeros dos componentes del PCA explican el 93.2% de la varianza, por lo que es un modelo adecuado.

Tabla 46. Análisis LSD en la intensidad de los atributos sensoriales entre los quesos artesanales de Tulancingo.

Fase	Atributo	QT1	QT2	QT3	QT4	QT5
Visual	Amarillo pálido	4.70a	2.65c	3.25b	1.85d	3.24b
	Brillante	2.87c	4.96a	4.71a	5.16a	4.08b
	Húmedo	2.06d	4.07b	3.80b	5.10a	3.07c
Olfativa	Láctico acidificado	2.02c	4.61a	4.05ab	4.69a	3.58b
	Láctico cocido	3.34c	4.00ab	4.27a	3.53bc	4.40a
	Butírico	1.90c	2.70a	2.50ab	2.20bc	2.18c
	Caramélico	2.83a	2.37a	2.63a	2.46a	2.47a
	Vaca	2.60c	3.41b	3.90a	3.60ab	3.41b
	Diacetilo	2.81c	3.61ab	3.58b	3.24bc	4.04a
	Láctico afrutado	2.74a	2.11b	2.55ab	2.59a	2.38ab
	Láctico cocido	3.26b	3.96a	4.07a	3.87a	4.06a
Bucal	Butírico	4.28a	4.17a	4.24a	3.91ab	3.58b
	Caramélico	3.18a	2.57b	2.48b	2.65b	2.48b
	Vaca	3.38ab	3.85a	3.85a	3.23b	3.12b
	Diacetilo	3.38a	3.31a	3.14a	2.99a	3.33a
	Láctico acidificado	4.01ab	3.54bc	4.09a	4.31a	3.22c
	Dulce	2.72ab	2.67ab	2.56ab	2.93a	2.39b
	Salado	3.24b	3.18b	2.83b	3.99a	2.39c
	Ácido	4.83a	3.03c	4.11b	3.86b	3.99b
	Amargo	2.45a	1.53b	1.79b	1.54b	1.81b
	Firme	3.48d	4.35b	4.77a	4.32b	3.94c
	Masticable	3.09c	4.54a	4.91a	4.83a	4.11b
	Gomoso	2.61c	4.63a	4.52a	4.29ab	3.94b
	Adherente	2.93a	3.08a	2.51bc	2.39c	2.88ab
	Fibroso	2.45d	4.38b	4.51ab	4.83a	3.67c
	Húmedo	2.69d	4.68b	4.75b	5.45a	3.92c
	Grasoso	3.66a	3.90a	3.76a	3.09b	3.57a
Rechinante	2.51c	3.73a	3.64a	3.70a	3.10b	
Táctil	Húmedo	2.38d	3.69b	3.84b	5.58a	3.00c
	Grasoso	4.68a	4.34ab	4.12bc	3.38d	3.74cd
	Elástico	2.69c	4.37a	4.18a	3.43b	3.98ab
	Deshebrable	3.95c	6.90a	6.64ab	7.29a	6.09b

Letras diferentes (a,b,c) junto al valor de intensidad denotan diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los quesos en cada día de evaluación.

QT1 a QT5: indican el código de identificación para cada productor de Tulancingo, Hidalgo.

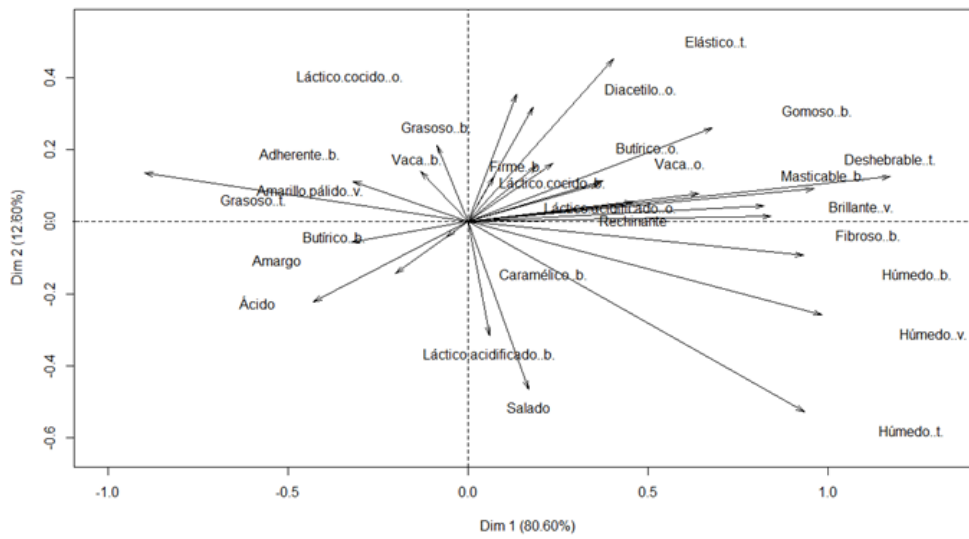
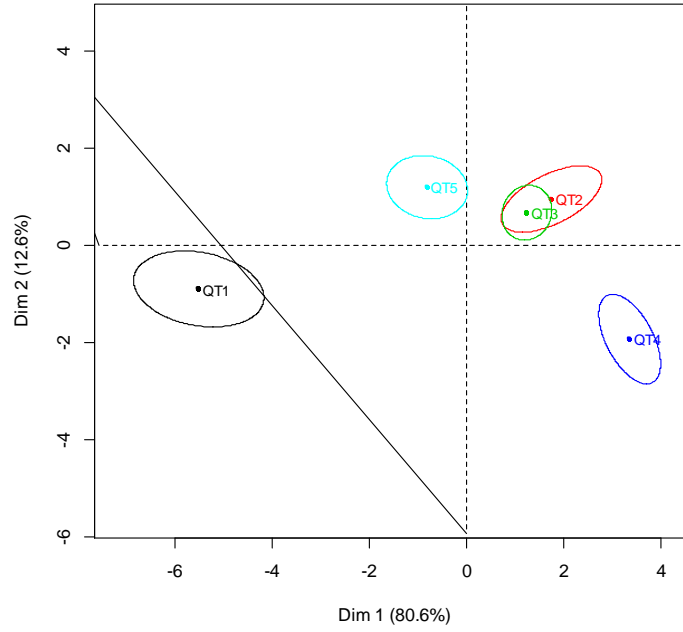


Figura 19. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos artesanales de Tulancingo, Hidalgo.

3.6.2.3. Queso Oaxaca de Aculco, Estado de México

Los procesos de elaboración de los quesos artesanales en Aculco se llevan a cabo de manera semi industrial, ya que los volúmenes de leche procesados son mayores, existen pocos controles de proceso y al igual que en las dos regiones anteriores, las prácticas sanitarias son muy deficientes. Una diferencia relevante en esta región es que un gran número de productores adicionan nitrato a la leche, pues tienen la creencia de que funciona como agente antimicrobiano. Los atributos sensoriales en Aculco fueron evaluados con intensidades ligeramente menores que en los quesos de Tulancingo y Oaxaca (Tabla 47).

Tabla 47. Análisis LSD en la intensidad de los atributos sensoriales entre quesos artesanales de Aculco, Estado de México.

Fase	Atributo	QA1	QA2	QA3	QA4	QA5
Visual	Amarillo pálido	3.86a	3.41b	2.63c	3.14b	3.31b
	Brillante	4.53bc	5.41a	4.08c	5.07ab	5.76a
	Húmedo	3.62c	5.45ab	3.83c	4.85b	6.32a
Olfativa	Láctico acidificado	4.37ab	3.71b	3.62b	3.68b	4.66a
	Láctico cocido	3.62ab	3.06bc	3.38b	4.05a	2.70c
	Butírico	1.82ab	1.90ab	1.77b	2.25a	1.62b
	Caramélico	2.46a	2.18ab	2.03ab	2.06ab	1.73b
	Vaca	2.49bc	2.79abc	3.39a	3.09ab	2.39c
	Diacetilo	2.60a	2.58a	2.40a	2.76a	2.28a
	Láctico afrutado	2.59a	2.72a	2.65a	2.76a	2.55a
Bucal	Láctico cocido	3.71a	3.45a	2.82b	3.98a	2.79b
	Butírico	2.74ab	2.76ab	2.70ab	3.25a	2.54b
	Caramélico	2.77a	2.34ab	1.81b	2.26ab	1.98b
	Vaca	2.74b	2.91ab	3.48a	3.18ab	2.91ab
	Diacetilo	2.23a	2.02ab	1.88ab	2.04ab	1.64b
	Láctico acidificado	4.12b	4.27b	5.27a	3.68b	5.58a
	Dulce	2.86a	2.24bc	1.84c	2.59ab	2.06bc
	Salado	2.62ab	2.11b	2.49ab	3.01a	2.43b
	Ácido	4.66b	4.10b	4.64b	3.46c	5.38a
	Amargo	2.13b	2.10b	3.57a	1.85b	3.16a
	Firme	2.97b	3.58a	2.88b	3.75a	2.81b
	Masticable	2.84c	3.53b	2.95c	4.21a	3.26bc
	Gomoso	2.38b	3.05a	2.43b	3.24a	2.43b
	Adherente	2.68ab	2.27bc	2.94a	2.18c	2.31bc
	Fibroso	2.06c	3.38a	2.70b	3.48a	3.27a
Húmedo	3.48d	4.38c	3.59d	5.07b	5.84a	
Grasoso	3.32a	2.63b	3.41a	2.58b	2.75b	
Rechinante	2.33b	2.67ab	2.27b	3.01a	2.40b	
Táctil	Húmedo	2.88c	5.21a	3.78b	5.34a	5.77a
	Grasoso	3.30ab	3.17b	3.57ab	3.82a	3.64ab
	Elástico	2.28b	2.51b	2.27b	3.54a	2.26b
	Deshebrable	3.23c	4.73b	4.34b	5.77a	4.93b

Letras diferentes (a,b,c) junto al valor de intensidad denotan diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los quesos en cada día de evaluación.

QT1 a QT5: indican el código de identificación para cada productor de Aculco, Estado de México.

En la fase visual fueron descritos como quesos con baja tonalidad amarilla, brillantes y con un aspecto muy húmedo. Los atributos aromáticos sobresalientes fueron *láctico cocido*, *láctico acidificado*, *vaca*, *láctico afrutado* y *diacetilo*. En gustos básicos se percibieron como quesos mayormente ácidos y salados con menor grado de dulzor y amargor. Se puede decir que son los quesos con las intensidades más bajas en los atributos *firme*, *gomoso*, *masticable*, *fibroso* y *rechinante*, lo cual resulta muy lógico pues fueron los quesos con mayor porcentaje de humedad (Tabla 22). También fueron evaluados como los quesos menos deshebrables y con baja adherencia.

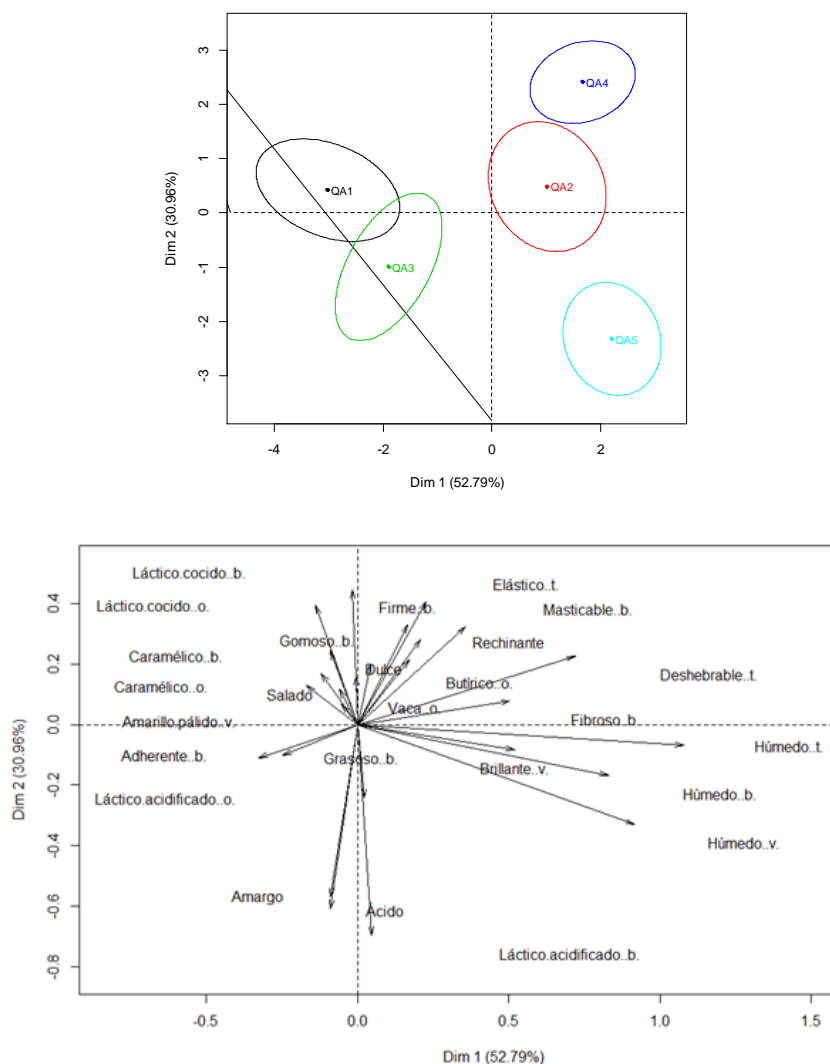


Figura 20. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos artesanales de Aculco, Estado de México.

En cuanto a la discriminación entre muestras, existen dos pares de muestras que pudieran ser confundibles QA1 con QA3 y QA4 con QA2, y ambos pares son muy diferentes entre sí y con el quinto queso QA5. Los quesos QA1 y QA3 se discriminan por los atributos *láctico acidificado*, *adherente*, *amarillo pálido*, *salado* y *caramélico*; en contraste los quesos QA2 y QA4 los hacen por los atributos *fibroso*, *deshebrable*, *masticable*, *rechinante*, *butírico* y *vaca*. Finalmente, el

queso QA5 puede diferenciarse del resto de manera clara por su intensidad en los atributos *ácido, láctico acidificado, húmedo, brillante y amargo*.

3.6.3. Quesos industriales

En los procesos de elaboración de quesos industriales, normalmente, se utiliza leche pasteurizada y descremada, cultivos lácticos, aditivos (almidones, gomas, ácidos orgánicos, conservadores, proteína de leche).

En el último estudio de calidad realizado en México por la PROFECO para el queso Oaxaca (Revista del consumidor, 2012) se reportó la existencia de 52 marcas de queso Oaxaca industrial en el mercado. Se eligieron las 30 marcas que más fácilmente pueden encontrarse en el mercado local. Las 30 marcas fueron evaluadas por el grupo de jueces y se agruparon en función de la semejanza de sus atributos sensoriales integrándose 5 grupos de 6 quesos cada uno. Para llevar a cabo el estudio sensorial se eligieron 2 quesos que representaran a cada grupo y a partir de esta información poder tener hacer inferencias sobre el universo de quesos Oaxaca existentes en el mercado. Seleccionar a los quesos representativos fue una tarea complicada pues como en el resto de los quesos analizados en este estudio la heterogeneidad en los atributos sensoriales es muy grande. En el caso de los quesos industriales todos los atributos fueron discriminantes a un α de 0.05 (Tabla 48).

Al analizar los valores de intensidad de los atributos por LSD entre los quesos (Tabla 49) se observa que la diferencia es tal que se complica aún más que en los quesos artesanales establecer pautas para describir de manera general los atributos sensoriales de los quesos industriales. En atributos como *vaca, diacetilo, láctico acidificado, dulce, grasoso, masticable, fibroso y deshebrable* se forman hasta 6 grupos con diferencia significativa.

En la fase visual los intervalos de intensidad van de 1.01 a 3.69 para el atributo *amarillo pálido*, de 2.73 a 6.60 en el atributo *brillante* y de 2.26 a 6.69 en aspecto *húmedo*. Por lo que podría hablarse de una amplia gama de tonos y aspectos en los quesos industriales.

Si ponemos nuestra atención en los atributos aromáticos notamos que también existen amplios intervalos en los valores que califican la intensidad de éstos, teniendo un queso con olores y aromas muy tenues (Q1) hasta un queso con olor y aroma intenso (Q10) que se asemeja más a los que se han encontrado en los quesos artesanales y experimentales.

Esta variabilidad se reproduce tanto en los atributos de gustos básicos, como en los atributos de textura, ya sea bucal o manual. En todos los casos encontramos amplios intervalos en los que la intensidad de los atributos está siendo percibida (Tabla 49).

Tabla 48. P-values obtenidos para las intensidades percibidas en los quesos industriales mediante ANOVA con pseudomixed model de 3 factores y 2 vías ($p \leq 0.05$).

Fase	Atributo	Pr(>F)
Visual	Amarillo pálido	2e-16 *
	Brillante	2e-16 *
	Húmedo	2e-16 *
Olfativa	Láctico acidificado	2e-16 *
	Láctico cocido	1.83e-05 *
	Butírico	0.042 *
	Caramélico	4.59e-11 *
	Vaca	5.82e-11 *
	Diacetilo	8.93e-07 *
	Láctico afrutado	1.36e-05 *
Bucal	Láctico cocido	0.0019 *
	Butírico	0.0399 *
	Caramélico	3.97e-07 *
	Vaca	2.14e-08 *
	Diacetilo	0.0251 *
	Láctico acidificado	2e-16 *
	Dulce	0.0046 *
	Salado	8.23e-11 *
	Ácido	4.91e-11 *
	Amargo	0.0083 *
	Firme	2e-16 *
	Masticable	2e-16 *
	Gomoso	2e-16 *
	Adherente	3.36e-06 *
	Fibroso	2e-16 *
Húmedo	2.56e-11 *	
Grasoso	0.0004 *	
Rechinante	1.49e-13 *	
Táctil	Húmedo	2e-16 *
	Grasoso	4.77e-05 *
	Elástico	5.3e-13 *
	Deshebrable	4.82e-16 *

* Indica diferencia significativa ($P \leq .05$) entre los atributos de los quesos para cada uno de los días de evaluación.

Los quesos industriales fueron codificados en función de los grupos de los que fueron extraídos, de tal manera que los quesos QI1 y QI2, representan al primer grupo de quesos; QI3 y QI4 al segundo y así sucesivamente.

La ubicación de los quesos industriales en el PCA (Figura 21) indica la formación de dos grupos de quesos con características sensoriales afines: G1 (QI2, QI4 y QI6) y G2 (QI1, QI5, QI7, QI8),

Tabla 49. Análisis LSD en la intensidad de los atributos sensoriales entre quesos industriales.

Fase	Atributo	Q11	Q12	Q13	Q14	Q15	Q16	Q17	Q18	Q19	Q110
Visual	Amarillo pálido	2.91cd	2.68de	3.39ab	3.12bc	2.40e	2.96cd	3.61a	1.66f	1.01g	3.69a
	Brillante	2.73e	2.81e	4.45c	3.86d	6.16a	4.88bc	5.31b	3.72d	6.60a	6.27a
	Húmedo	2.39e	2.26e	3.36c	2.59de	5.10b	3.15cd	3.29c	3.30c	6.69a	6.31a
Olfativa	Láctico acidificado	2.46d	3.24c	3.69c	2.49d	2.42d	2.17d	2.49d	3.19c	6.68a	5.28b
	Láctico cocido	3.16b	4.76a	3.01bc	4.66a	4.28a	3.61b	3.58b	3.31b	2.44c	3.64b
	Butírico	1.94cd	1.81cd	2.75a	1.97bcd	2.77a	2.65a	2.73a	2.11bc	1.60d	2.43ab
	Caramélico	3.62a	3.37a	1.68b	3.21a	3.48a	3.44a	3.14a	3.15 ^a	1.23b	1.62b
	Vaca	1.71f	2.25def	4.75a	1.71f	1.96ef	2.37de	2.97c	2.58cd	3.65b	4.17ab
	Diacetilo	2.77cd	3.82b	3.25bc	3.34bc	5.23a	3.52b	3.59b	2.88c	2.22d	3.33bc
	Láctico afrutado	5.11a	3.54d	2.30e	2.67e	3.59cd	4.19b	4.17bc	3.94bcd	2.32e	2.85e
Bucal	Láctico cocido	3.62bcd	3.16d	3.21d	4.05b	4.72a	3.96bc	4.21ab	4.76a	3.39cd	3.87bc
	Butírico	3.23cd	2.51e	3.69abc	3.54bc	4.01ab	3.55bc	4.22a	3.38c	2.68de	3.41bc
	Caramélico	3.57a	1.58c	1.86c	2.57b	2.90b	3.70a	3.63a	2.88b	1.41c	2.65b
	Vaca	2.50e	3.39cd	4.54a	3.32cd	2.26e	2.79de	2.78de	2.44e	3.73bc	4.27ab
	Diacetilo	3.10abcd	2.29ef	3.23abc	2.81bcd	3.38a	2.97abcd	3.31ab	2.73cde	1.85f	2.71de
	Láctico acidificado	2.33f	5.00b	4.66bc	4.23cd	2.00f	2.92e	3.25e	2.14f	6.27a	4.09d
	Dulce	3.43ab	1.93fg	2.17efg	2.63cde	2.92bcd	3.61a	3.09abc	3.31ab	1.68g	2.41def
	Salado	3.27b	2.88bc	4.35a	4.12a	2.14de	2.67cd	2.32de	2.05e	3.19bc	3.89a
	Ácido	2.95cd	4.25a	4.00ab	3.48bc	1.73e	2.61d	3.05cd	1.98e	4.36a	3.39c
	Amargo	2.23d	3.39a	2.26d	1.97de	2.75bc	1.95de	2.29cd	2.12d	2.91b	1.63e
	Firme	2.79fg	3.72cd	4.75b	4.16c	2.45g	4.75b	3.36de	2.85fg	2.98ef	5.61a
	Masticable	2.19g	3.92d	4.74b	4.17cd	2.89f	4.42bc	3.43e	2.87f	4.17cd	5.84a
	Gomoso	2.30de	2.83c	4.68a	3.43b	1.91e	4.65a	3.58b	2.81c	2.77cd	5.15a
	Adherente	3.65 ^a	3.06b	1.77d	2.17cd	1.96d	2.26cd	2.61bc	3.10b	2.11cd	1.84d
Fibroso	1.17f	2.66c	3.80b	2.35cd	1.50ef	3.32b	1.94de	1.52ef	3.55b	5.38a	
Táctil	Húmedo	2.34de	2.12e	3.23bc	2.45de	3.65b	2.75cd	2.86cd	3.29bc	5.06a	4.83a
	Grasoso	4.37ab	3.36de	2.82f	3.54cde	4.76a	3.53cde	4.06bc	3.85bcd	3.03ef	2.77f
	Rechinante	1.83de	2.06cd	3.58b	2.39c	1.59e	3.43b	2.47c	2.02cde	3.39b	5.03a
	Húmedo	2.09de	1.61e	2.80bc	2.39cd	3.32b	2.92bc	2.44cd	3.10b	5.04a	4.88a
	Grasoso	3.80bcd	4.06bc	3.40cd	4.31b	5.05a	3.32d	3.89bcd	3.81bcd	3.36d	3.53cd
	Elástico	2.71d	2.81d	4.84ab	4.32b	2.41de	5.09a	2.68d	2.02e	3.52c	5.32a
	Deshebrable	2.96f	3.69de	5.45c	4.08d	3.72de	5.03c	3.99d	3.07ef	6.35b	7.34a

Letras diferentes (a,b,c) junto al valor de intensidad denotan diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los quesos.

Q11 a Q15: indican en código de identificación de cada queso industrial.

y tres quesos que se discriminan del resto (Q13, Q19, Q10). Los quesos en G1 fueron definidos sensorialmente por los atributos: *amarillo pálido*, *láctico cocido* olfativo, *caramélico* olfativo, *dulce* y *adherente*. Los quesos en G2 por *caramélico bucal*, *adherente*, *láctico cocido* bucal, *grasoso* y *láctico acidificado*. El queso Q13 se percibe como más *elástico*, *gomoso*, *firme*, *vaca* bucal, *fibroso*, *masticable*, *ácido*, *diacetilo* y *butírico*. Los atributos que se asocian de manera importante al queso Q10 fueron *láctico acidificado* bucal, *rechinante*, *vaca* olfativo y *deshebrable*; mientras que el queso Q19 fue tipificado por los atributos *láctico acidificado* olfativo, *húmedo*, *brillante* y *amargo*.

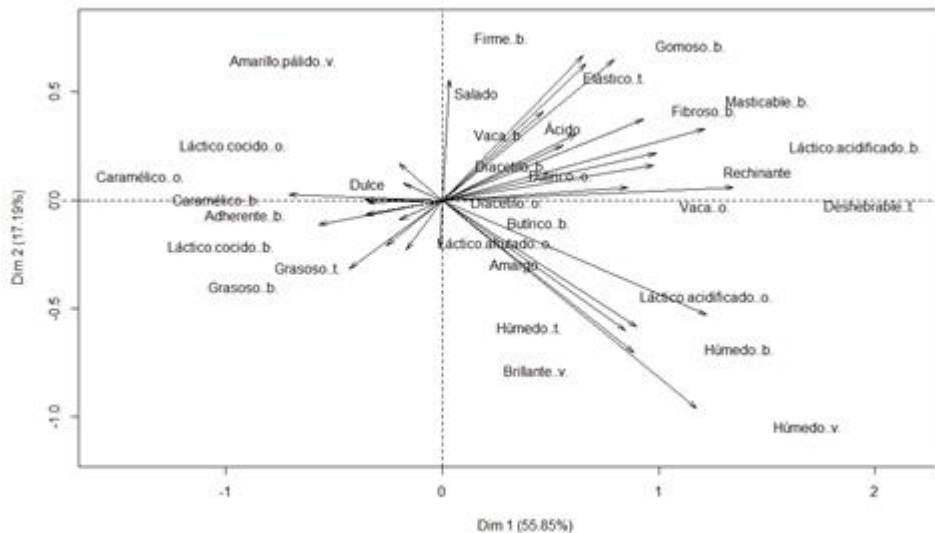
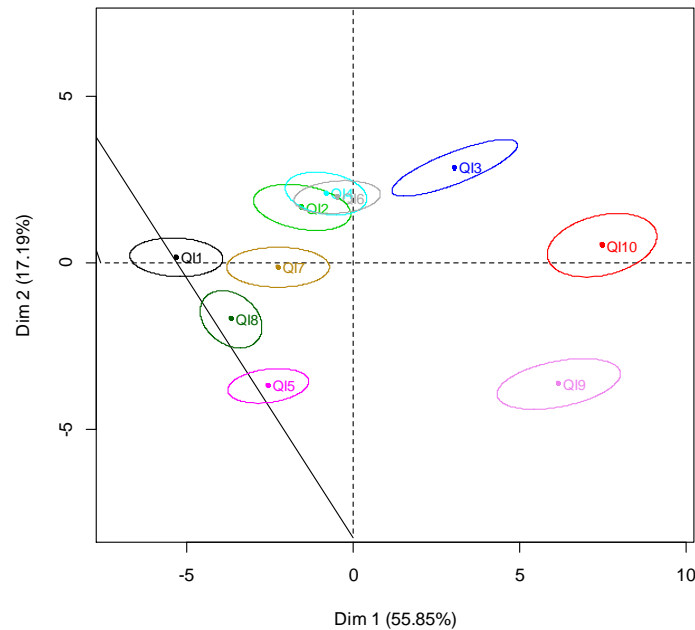


Figura 21. PCA obtenido para las características sensoriales de los quesos industriales

Cabe destacar que los quesos extraídos de un grupo determinado, tienen posiciones cercanas en el mapa, esto nos indica una adecuada clasificación sensorial de los quesos.

3.7. Mapeo interno de preferencia

El mapeo interno de preferencia consiste en un análisis estadístico multivariado mediante el cual se puede determinar la preferencia de un grupo de consumidores hacia un tipo de producto determinado. Se construye a partir de las apreciaciones hedónicas hechas por los consumidores hacia los productos en cuestión. Se interpreta de manera semejante a un PCA, cada vector representa a un consumidor, la dirección de la flecha nos indica hacia donde se inclina su nivel de agrado y la posición de los productos se relaciona con la dirección de las flechas para determinar su preferencia. Los porcentajes en las dimensiones indican el porcentaje de varianza que explican. En este caso se admiten porcentajes menores debido a que la subjetividad en una prueba afectiva es mayor que en una prueba analítica.

Para la elaboración del mapa de preferencia interno se consideraron todos los quesos analizados en este estudio, pues se deseaba conocer cuál(es) queso(s) era(n) el(los) más apreciado por los consumidores en función de su aspecto, textura, olor y sabor.

En el mapa se puede apreciar que la mayor concentración de consumidores se ubica en el primer y cuarto cuadrante con una ligera mayoría ubicada en el cuarto cuadrante. Esto quiere decir que cuanto más un queso se ubique hacia la posición en donde se encuentra el mayor número de consumidores mayor será la preferencia por este queso. De esta forma, se puede establecer una clara preferencia por los quesos artesanales (figura 22) y dentro de estos fueron más preferidos los quesillos de Oaxaca, seguidos de los quesos de Tulancingo, Aculco, experimentales y finalmente los industriales.

En el mapeo también fue posible identificar la preferencia dentro de los tipos de queso; el orden de preferencia de mayor a menor para el quesillo de Oaxaca fue QR5, QR4, QR3, QR2, QR1; para los quesos de Tulancingo: QT2, QT3, QT4, QT5, QT1; Aculco: QA4, QA3, QA1, QA2, QA5; experimentales: QC, QM, QT e industriales: QI10, QI5, QI9, QI4, QI7, QI6, QI1, QI8, QI2, QI3.

Dos datos interesantes que se obtienen como resultado en este análisis son: 1) un queso artesanal QA5, fue el que presentó el mayor nivel de desagrado y por ende de preferencia; y 2) un queso industrial QI10 se ubicó como uno de los 5 quesos mejor evaluados por los consumidores.

Para los consumidores son razones de agrado que un queso Oaxaca tenga una apariencia suave, cremosa, con color ligeramente amarillo, olor ligeramente a leche ácida, mantequilla, sabor poco ácido, poco salado, a leche fresca y de textura firme, pero suave y muy deshebrable. En contraste, los consumidores indicaron como razones de desagrado una apariencia colapsada, con demasiado suero, color muy amarillo, olor a leche rancia o estiércol,

sin sabor o con sabores desagradables como podrido o amargo, demasiado salado, que no se deshebre, con textura dura o muy aguada.

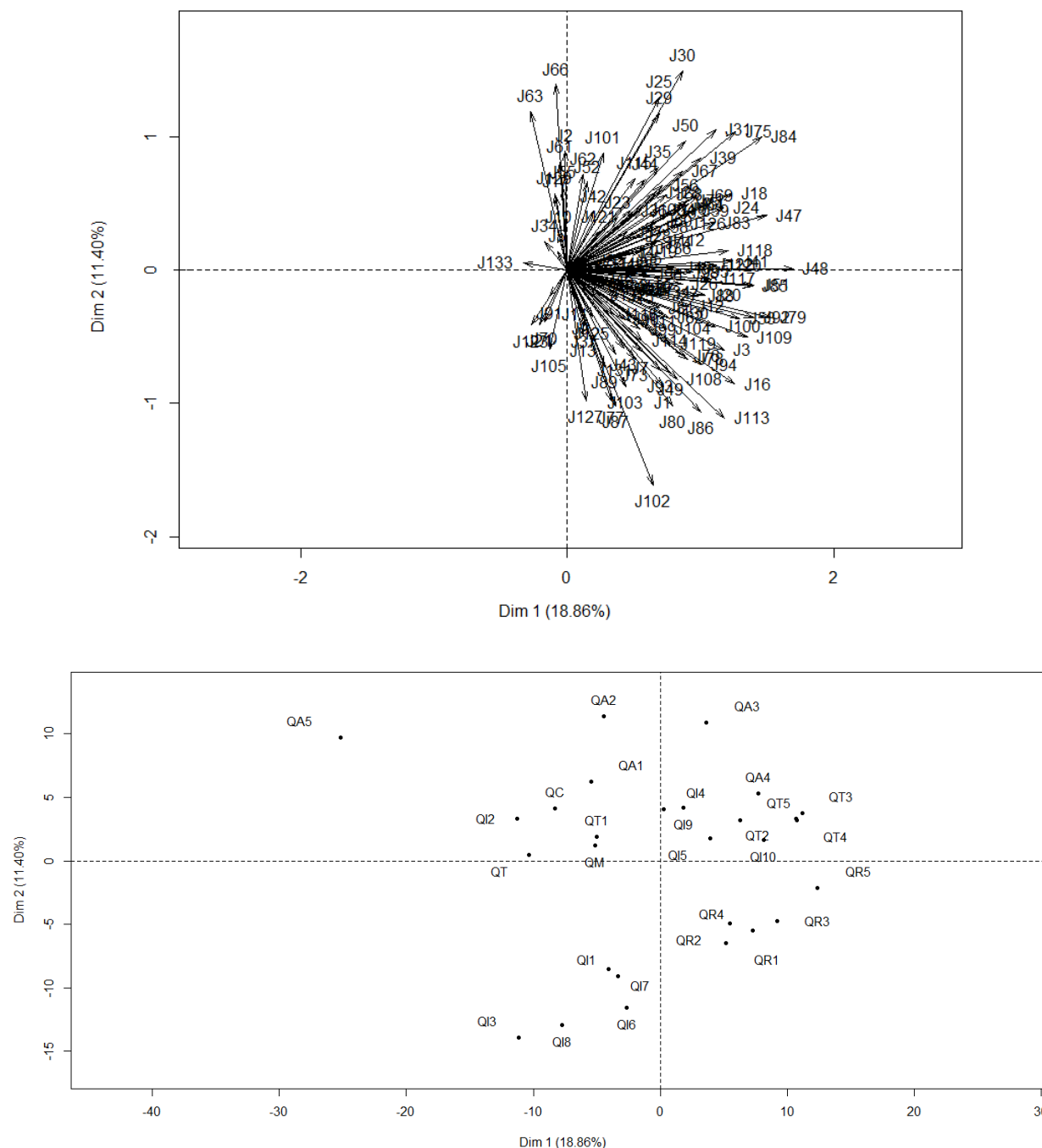


Figura 22. Mapeo de preferencia interno construido a partir de las preferencias hedónicas de los quesos Oaxaca experimentales, artesanales e industriales

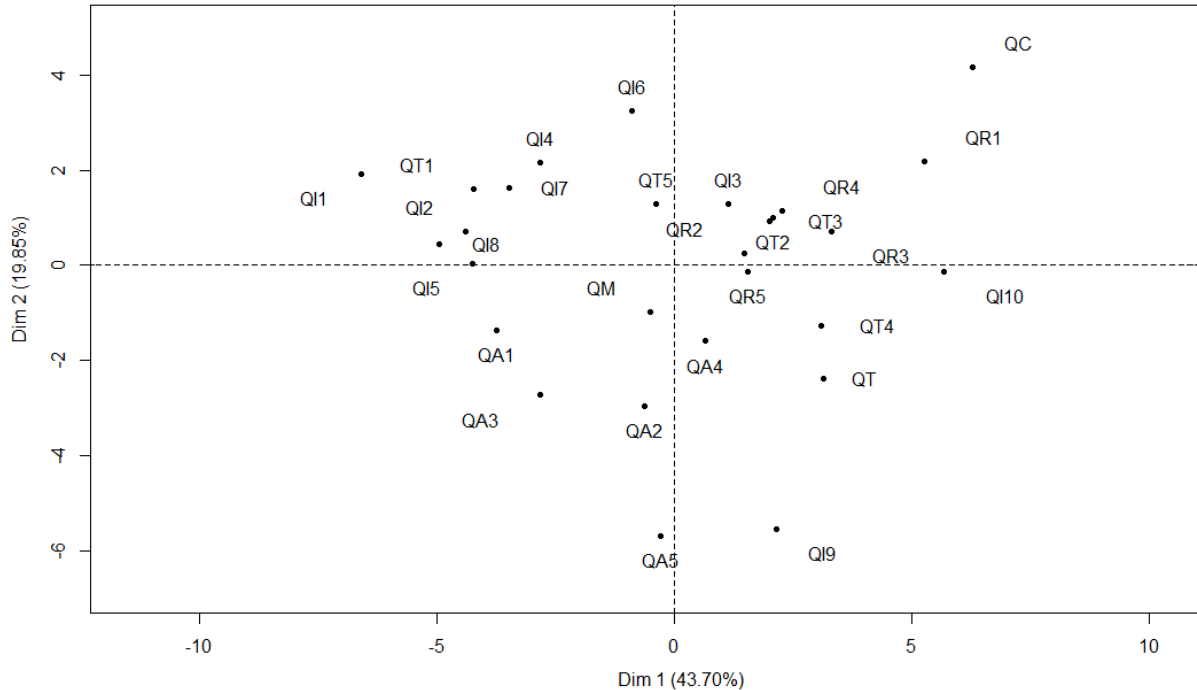
Para la mayoría de los consumidores que participaron en este estudio fue muy revelador el darse cuenta de lo limitada que era su percepción respecto a los quesos Oaxaca existentes en el mercado y lo que significa consumir un queso Oaxaca de calidad sensorial.

3.8. Mapeo externo de preferencia

El mapeo externo de preferencia es otra técnica multivariada que consiste en correlacionar datos afectivos provenientes de una prueba hedónica y datos analíticos provenientes de un perfil descriptivo. Mediante esta técnica se genera un mapa en dos dimensiones mediante el cual es posible correlacionar la preferencia de los consumidores con los atributos sensoriales de un producto para entender la relación que existe entre estos dos parámetros. El mapeo de preferencia externo se interpreta de manera semejante a un PCA y tomando como referencia el mapeo interno de preferencia previamente elaborado. El porcentaje expresado en las dos primeras dimensiones, expresa el porcentaje de varianza que el modelo puede explicar.

El mapa indicó que los atributos que definen el gusto de los consumidores de mayor a menor impacto son: *gomoso, rechinante, masticable, deshebrable, láctico acidificado, elástico, diacetilo, butírico, grasoso táctil, salado, láctico afrutado, brillante, vaca y húmedo bucal*; mientras que los atributos que no agradan tanto son *Amarillo pálido, láctico cocido, dulce, caramélico, adherente, grasoso visual y bucal, adherente y amargo*.

El mapeo de preferencia externo muestra la ubicación de los quesos respecto a los atributos que los caracterizan y permite entender por qué una muestra es más preferida sobre la otra.



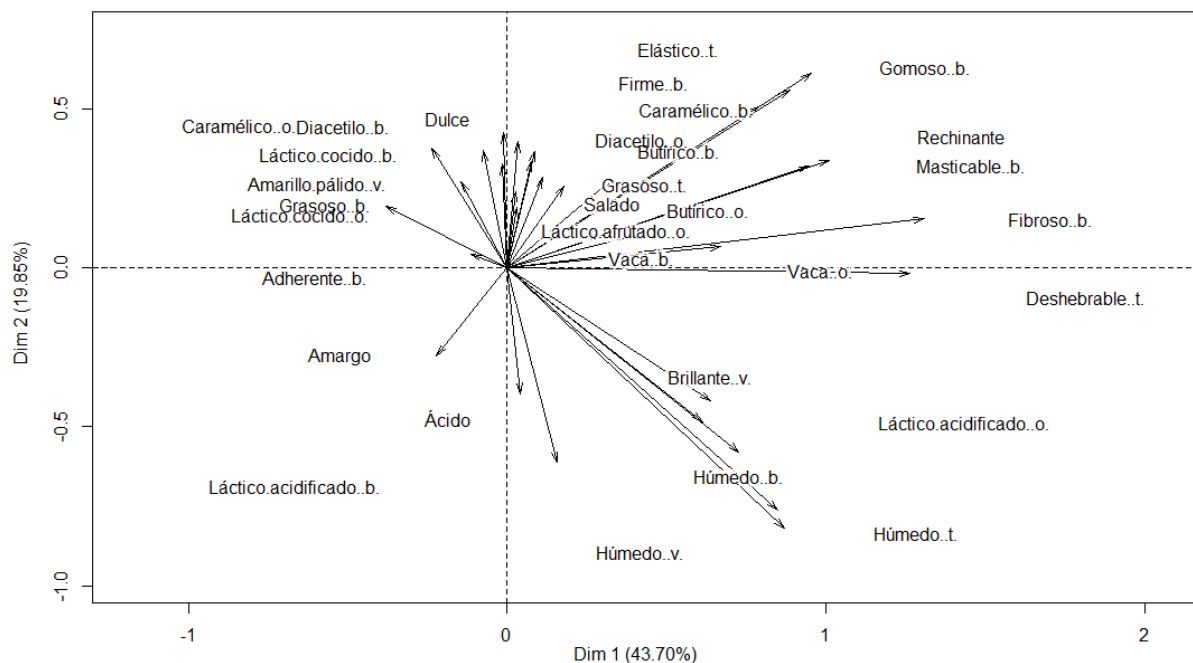


Figura 23. Mapeo externo de preferencia con los quesos Oaxaca experimentales, artesanales e industriales

3.9. Análisis multifactorial (MFA)

El análisis multifactorial es una técnica multivariada que permite correlacionar dos variables con diferentes dimensiones para conocer el efecto entre ellas. El mapa se genera a partir de un PCA con matriz de correlación por lo que la interpretación es semejante a un PCA convencional construido a partir de una matriz de covarianza. Uno de los objetivos de este estudio es entender el origen de los atributos sensoriales a partir de las propiedades fisicoquímicas de los quesos, es por ello se aplicó un MFA buscando correlacionar diferentes parámetros fisicoquímicos e instrumentales con los atributos sensoriales.

3.9.1. Atributos aromáticos

La intensidad de los atributos aromáticos se correlacionó con la concentración de VOC's identificados en los quesos Oaxaca. En el primer mapa del MFA se observan las relaciones existentes entre las variables. Los vectores en rojo representan a los atributos aromáticos y los vectores en color verde representan la concentración de VOC's responsables del olor y el aroma. En el segundo mapa la ubicación de los quesos indica la relación que existe entre los quesos y las variables en estudio.

El queso QC se relacionó mayormente con los atributos *diacetilo*, *láctico acidificado bucal*, *ácido butírico*, *vaca* y *láctico cocido bucal*, siendo los compuestos mayormente responsables de estas notas el diacetilo, el ácido caprílico, ácido propiónico, el ácido isovalérico, la 2,3 pentanodiona, ácido láctico y el sulfuro. El queso QM se discriminó por los atributos *caramélico*, *láctico afrutado*, *láctico cocido* olfativo y *butírico bucal*; teniendo como VOC's responsables la g-dodecalactona, d-dodecalactona, butiraldehído, ácido acético, decanal y

acetoína. El queso QT, se ubica en medio de los dos quesos anteriores, pero en dirección opuesta, por lo que este queso comparte los atributos de QM y QT pero en menor intensidad.

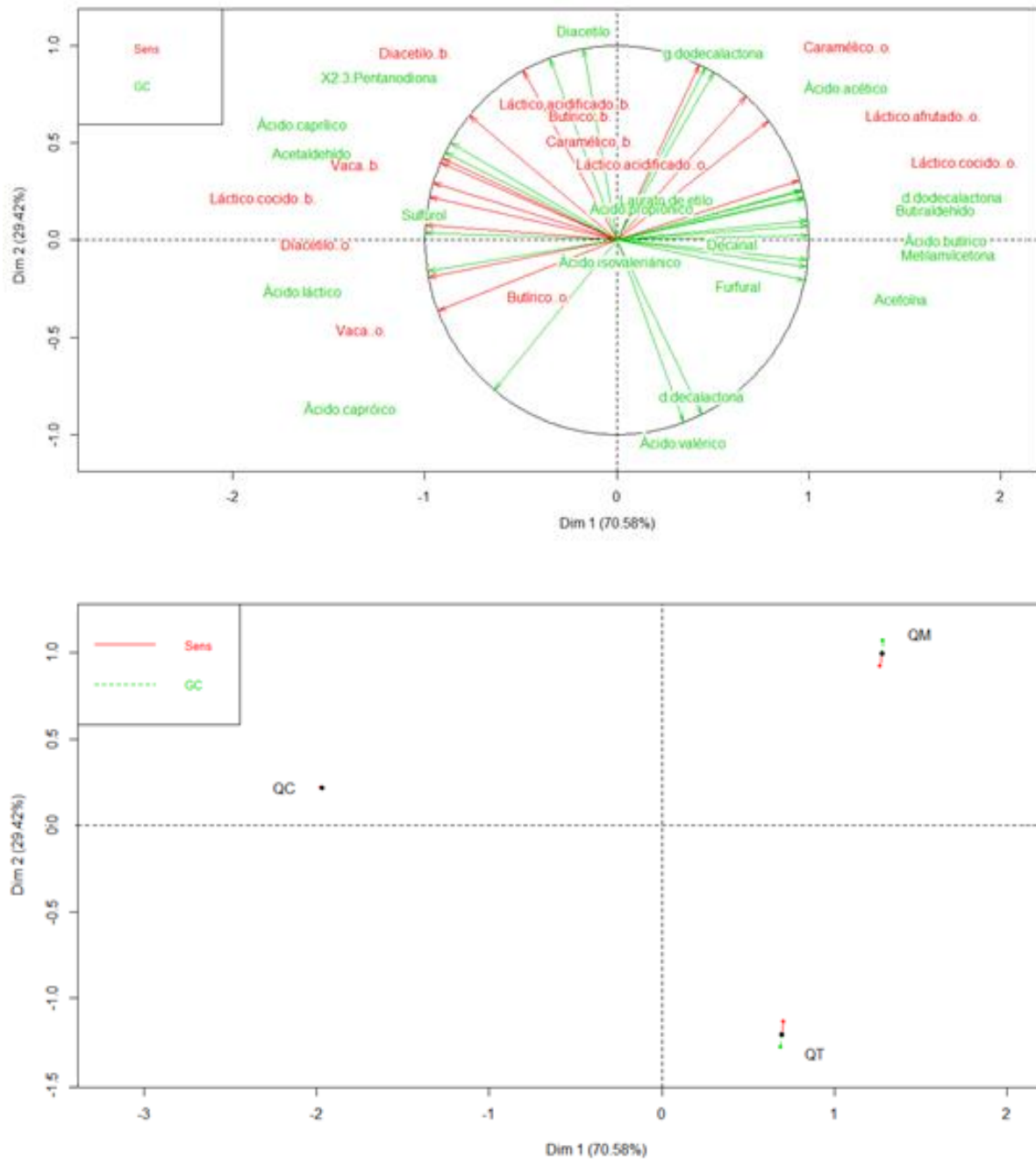


Figura 24. MFA entre atributos aromáticos y VOC's responsables de olor y aroma en los quesos Oaxaca

3.9.2. Atributos visuales

Los atributos visuales evaluados fueron *amarillo pálido*, *húmedo* y *brillante*. La intensidad sensorial percibida en estos atributos se correlacionó con los parámetros de color L, a*, b* y el índice de blancura (IB). Se observa que existe una fuerte correlación negativa entre el IB y el atributo amarillo pálido y a su vez el IB tiene una alta correlación positiva con la luminosidad. Los atributos *húmedo* y *brillante* tienen prácticamente nula correlación con las coordenadas cromáticas a* y b*, pero muestran una correlación positiva con la luminosidad. En el MFA se

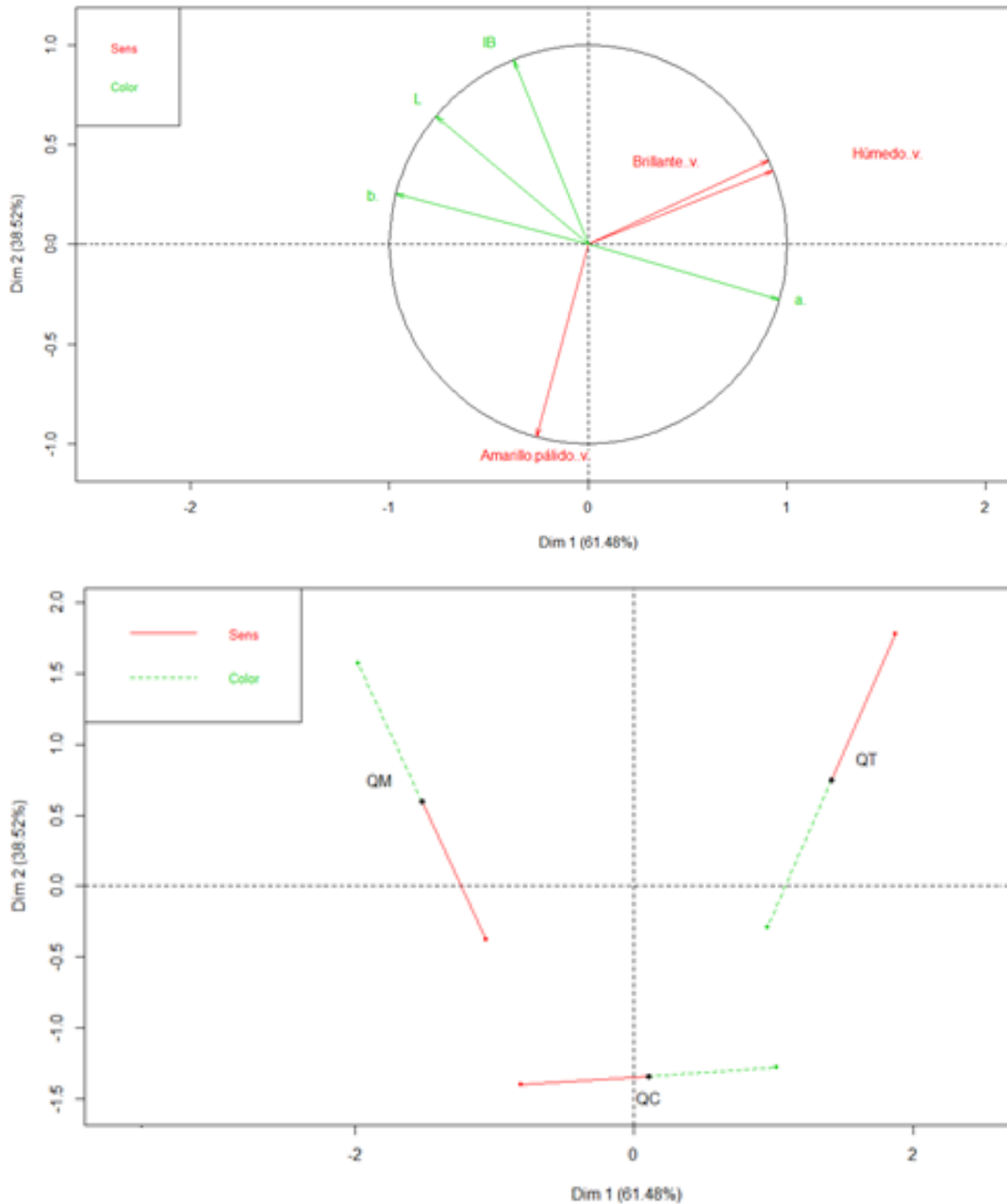


Figura 25. MFA entre atributos visuales y parámetros de color en los quesos Oaxaca.

confirma que el queso QT es el queso percibido sensorialmente como el más húmedo y brillante, QC como el más amarillo y QM se ubica entre estos dos.

3.9.3. Atributos de textura

En este caso se buscó correlacionar la intensidad de los atributos de textura bucal y manual con los parámetros de textura determinados instrumentalmente mediante un Análisis de perfil de textura (TPA).

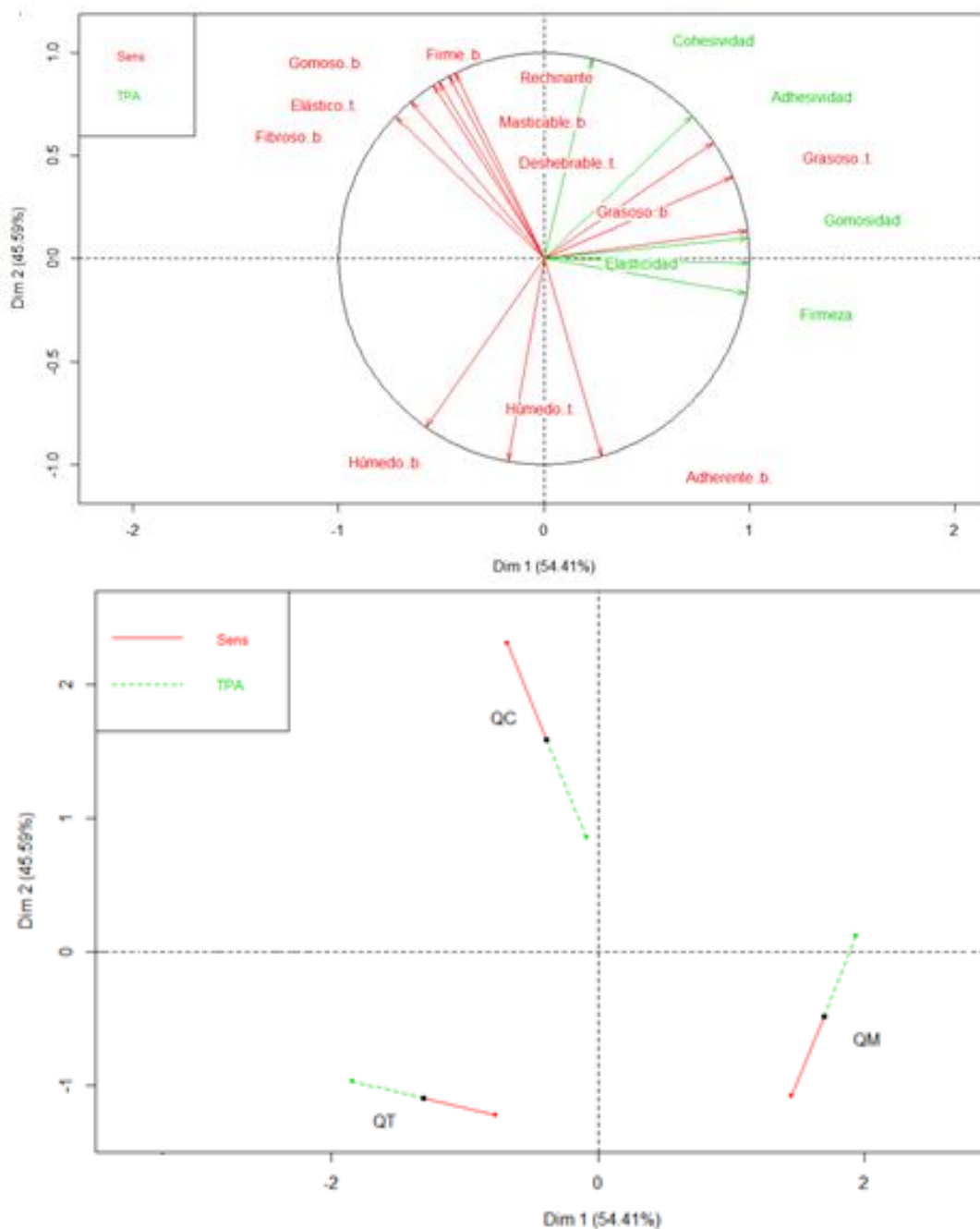


Figura 26. MFA entre atributos de textura y los parámetros del TPA en los quesos Oaxaca

En esta ocasión los vectores verdes representan los parámetros de TPA y los vectores rojos a los atributos sensoriales. Los atributos *firme*, *gomoso*, *elástico* y *fibroso* son los que caracterizan al queso QC y tiene una alta correlación positiva entre ellos, a la vez que tienen una alta correlación negativa con los atributos *húmedo* y *adherente* que tipifican al queso QT. QM queda tipificado como un queso *húmedo*, *adherente* y *grasoso*. Los parámetros de textura evaluados mediante TPA tienen una alta correlación positiva entre ellos, pero una correlación negativa con sus respectivos atributos de textura evaluados sensorialmente. Esto solamente hace sentido con el parámetro adhesividad, pues el texturómetro lo evalúa como fuerza negativa, mientras que los jueces la evaluaron en una escala de intensidad en la que se usan números positivos.

3.9.4. Atributos sensoriales y su relación con parámetros fisicoquímicos

La relación que existe entre la composición química, el pH como parámetro fisicoquímico y todos los atributos que integran el perfil sensorial se presentan en la figura 27. Existe una alta correlación positiva en el porcentaje de humedad y los atributos *húmedo*, *brillante*, *amargo* y *adherente*. El porcentaje de grasa se correlaciona positivamente con los atributos *grasoso*, *deshebrable*, *diacetilo* y de manera negativa con *rechinante gomoso* y *firme*. Asimismo, el pH tiene una alta correlación positiva con los atributos *ácido*, *deshebrable láctico acidificado* y *butírico*. Los vectores de contenido de sal y el atributo salado prácticamente se unen indicando una alta correlación positiva. Por otro lado, el porcentaje de proteína se relaciona positivamente con los atributos *rechinante*, *firme* y *gomoso*. Destaca la alta correlación negativa que tiene el porcentaje de proteína con el atributo *amargo*, lo cual podría interpretarse que, a mayor contenido a mayor contenido de proteína (no degradada), menor intensidad de gusto amargo y viceversa lo cual se puede asociar con la relación existente entre este atributo y la proteólisis.

El MFA muestra nuevamente la relación de los atributos *húmedo*, *brillante*, *amargo* y *adherente* con QT; la de los atributos *láctico acidificado*, *láctico afrutado*, *diacetilo*, *grasoso*, *caramélico*, *láctico cocido* con el queso QM; y *rechinante*, *firme*, *amarillo pálido*, *vaca*, *elástico*, *láctico cocido*, *butírico* y *vaca* con el queso QC.

Los MFA obtenidos ratifican que existe una correlación positiva entre los atributos sensoriales y los parámetros físicos y químicos, lo cual permite explicar el origen de los atributos sensoriales percibidos en los quesos estudiados.

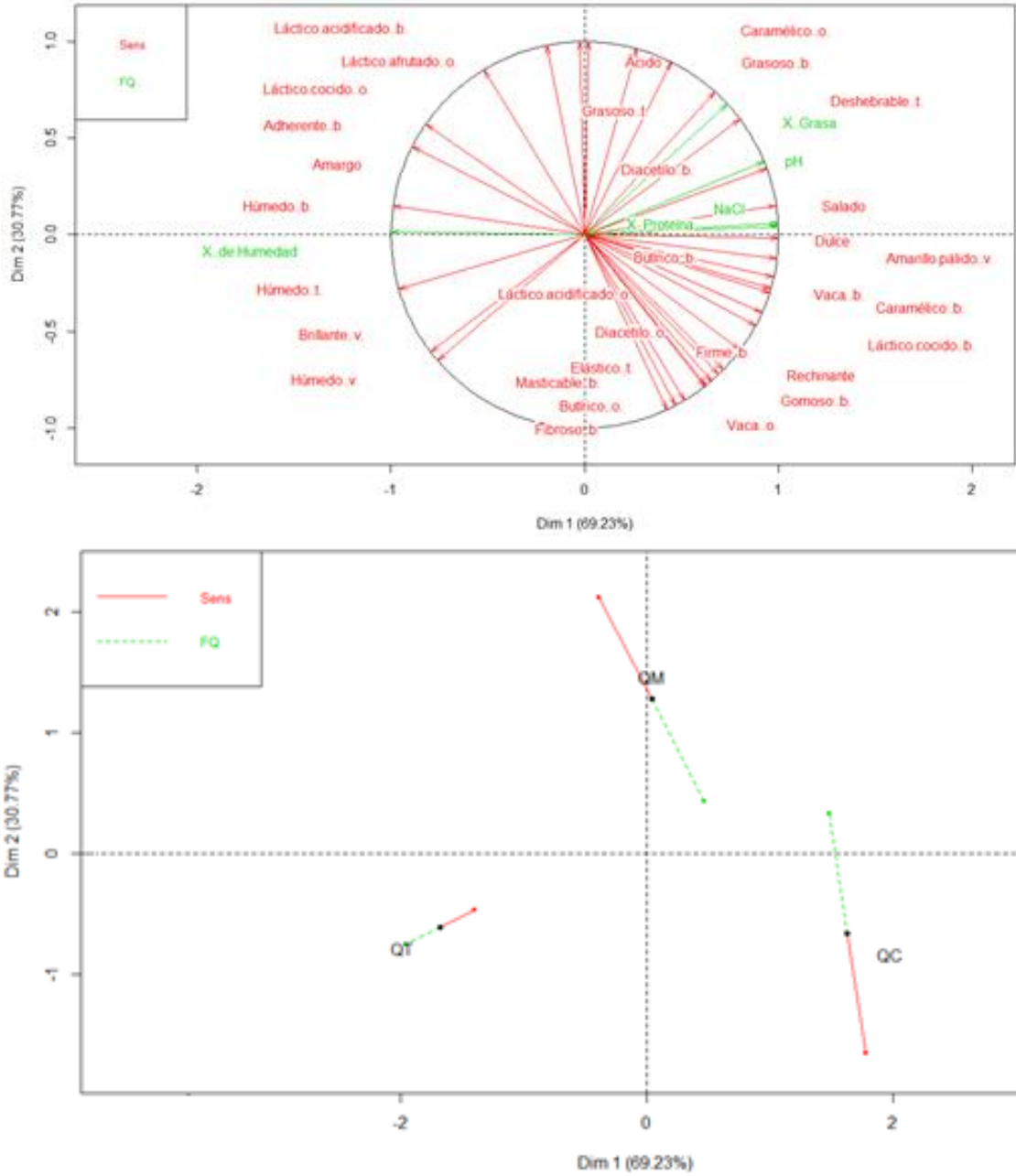


Figura 27. MFA entre atributos que integran el perfil sensorial y parámetros fisicoquímicos en los quesos Oaxaca

3.10. Perfil sensorial del queso Oaxaca elaborado en México

En la normatividad mexicana existen especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas para el queso Oaxaca; sin embargo, no se contemplan las características sensoriales, a pesar de que éstas son indispensables para completar la caracterización de un queso, además de ser determinantes para que un queso sea preferido y/o aceptado por los consumidores. Es por ello, que en esta investigación se tuvo como objetivo central determinar los atributos

sensoriales que caracterizan al queso Oaxaca y a partir de la definición de su perfil sensorial poder proponer especificaciones sensoriales que permitan tipificar este queso a lo largo de su vida útil.

Los resultados globales del estudio mostraron que a lo largo del almacenamiento se producen cambios en todas las características analizadas en los quesos y que estos cambios son rápidos puesto que se trata de un queso fresco. Estos cambios fueron percibidos por el panel de evaluadores y fue posible correlacionar positivamente esta percepción con los resultados obtenidos de análisis físicos y químicos. Sin embargo, con el análisis sensorial es posible determinar el momento en el que los atributos sensoriales hacen que el queso sea rechazado, lo cual permite poner en evidencia la importancia de la evaluación sensorial.

Los perfiles sensoriales del queso Oaxaca establecidos a lo largo del almacenamiento mostraron que existen cambios perceptibles en lapsos de ocho días, aunque en algunos casos no hay diferencias significativas, y que el perfil sensorial del día 22 es muy diferente de aquel del día 1. El día 22 se perciben en el queso sabores y texturas desagradables que afectan su calidad sensorial. Por tanto, se puede establecer, en primera instancia, que la vida de anaquel de un queso Oaxaca que cumple con las especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas es de 20 días, tal como lo estipula la norma; y se puede añadir, que también cumplirá en el aspecto sensorial.

Con base en los resultados obtenidos, se puede proponer como referencia de cumplimiento al queso elaborado con leche pasteurizada y cultivo mesofílico o bien al queso artesanal QR5 elaborado en Reyes Etlá, Oaxaca. Lo anterior permite aseverar que es posible elaborar en México queso Oaxaca que cumpla con la normatividad.

En cuanto a los atributos sensoriales, el estudio mostró que los quesos Oaxaca artesanales son los preferidos y que los menos aceptados son los quesos industriales. No obstante, todos los quesos Oaxaca estudiados comparten atributos sensoriales a partir de los cuales se puede establecer un perfil sensorial que incluya a todos los quesos Oaxaca elaborados en México. Además, en este perfil estaría incluida la opinión del consumidor puesto que los resultados de los mapeos interno y externo de preferencia tuvieron correlación con la percepción de un panel de evaluadores entrenados.

Por otro lado, en la propuesta de perfil sensorial de queso Oaxaca mexicano debe considerarse en primer lugar el cumplimiento de la normatividad en el aspecto de composición química y poblaciones microbianas. Desafortunadamente casi la totalidad de los quesos artesanales no cumplen la norma en el aspecto de microbiología y sólo un bajo porcentaje cumple con las especificaciones de composición química; mientras que la mayoría de los quesos industriales tampoco cumplen con las especificaciones microbiológicas ni la composición química. En el aspecto sensorial, los quesos artesanales son muy bien aceptados y los industriales no.

Con base en lo anterior, es evidente que las normas mexicanas para este queso carecen de objetividad porque un porcentaje mínimo del queso Oaxaca elaborado en México las cumple. Habría que sugerir, entonces, una norma que clasifique a los quesos en función de la calidad real de los quesos.

Con respecto al perfil sensorial para queso Oaxaca mexicano y tomando como base la heterogeneidad se puede sugerir que idealmente posea los atributos *amarillo pálido, firme, elástico, gomoso, deshebrable, diacetilo, butírico, láctico afrutado, láctico acidificado* y *vaca* en intensidades que faciliten su percepción. A partir de este perfil “ideal” se pueden establecer otros que tendrían concordancia con la gama de calidad establecida en una norma en función de la composición química y población microbiana.

4. CONCLUSIONES

Durante el almacenamiento de quesos Oaxaca experimentales se cuantificaron cambios en todos los parámetros evaluados: poblaciones microbianas, degradación de proteína, TPA, color, compuestos orgánicos volátiles. Estos cambios modificaron el perfil sensorial a través del tiempo y fueron percibidos por el panel de evaluadores de tal manera que pudo detectarse el momento en que el queso Oaxaca adquiere características indeseables.

El análisis multifactorial mostró una alta correlación positiva entre resultados derivados de técnicas fisicoquímicas e instrumentales y la apreciación cuantitativa de los atributos sensoriales generada por los jueces.

La microbiota presente en los quesos Oaxaca estudiados es común en todos los quesos; sin embargo, las poblaciones son mayores en los quesos artesanales y algunos grupos microbianos (coliformes) no están en todos los quesos industriales. Todos los grupos microbianos disminuyen durante el almacenamiento, con excepción de los psicrótrofos, y la población mayoritaria son las BAL. El tipo de microbiota mayoritaria presente influye en los atributos sensoriales del queso; así, los quesos artesanales poseen concentraciones de compuestos de aroma (medidas instrumentalmente) e intensidades (medidas sensorialmente) mayores.

El mapeo interno de preferencia reveló la preferencia de los quesos: los artesanales tuvieron la mayor preferencia y los industriales la menor; mientras que en el mapeo externo se definieron los atributos responsables de la preferencia, entre los que destacan gomoso, deshebrable, láctico acidificado, elástico, diacetilo, butírico, grasoso táctil y vaca. Los datos generados en los mapeos, es útil para definir el perfil sensorial que cumpla con las expectativas de los consumidores.

Los quesos Oaxaca estudiados revelaron una alta variabilidad en todos los parámetros evaluados; no obstante, se definieron 32 atributos sensoriales comunes a todos los quesos Oaxaca estudiados, aunque en diferentes intensidades. A partir de estos atributos se estableció un perfil sensorial que permite caracterizar al queso Oaxaca elaborado en México.

5. REFERENCIAS

- Aceves, J.F. (2013) 'Caracterización del fundido y textura en quesos Oaxaca y queso Oaxaca de imitación, comerciales'. Tesis de licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- Adda, J., Gripon, J. C. and Vassal, L. (1982) 'The chemistry of flavour and texture generation in cheese', *Food Chemistry*, 9(1–2), pp. 115–129. doi: 10.1016/0308-8146(82)90073-5.
- Aguilar-Uscanga, B., Montero-Lagunes, M., De la Cruz, J., Solís-Pacheco, J. R., García, H. S. (2006) 'Using fermented cheese whey to reduce acidification time of Oaxaca cheese'. *Agrociencia*, 40, 569-575.
- AIHA (2003) 'Odor Thresholds for Chemicals with Established Health Standards, 2nd Edition'. Available at: <https://www.pdo.co.om/hseforcontractors/Health/Documents/HRAs/ODOR THRESHOLDS.pdf>.
- Alekseeva, M. A. *et al.* (1983) 'Improving criteria of selection of propionibacteria for cheesemaking', in Shlegel, H. A. (ed.) *Nauchno-Technichesky Progress*. Barnaul: Altaiskii TSNTI, pp. 17–129.
- Altieri, C., Scrocco, S., Sinigaglia, M., Del Nobile, M. A. (2005) 'Use of chitosan to prolong Mozzarella cheese shelf life'. *Journal of Dairy Science*, 88, 2683-2688.
- Alva, P. (2014) 'Evaluación de la población de bacterias coliformes en queso Oaxaca artesanal durante su procesamiento y almacenamiento'. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- Akkerman, J. C., Waltra, P., van Dijk H. J. M. (1989) 'Holes in Dutch-type cheese. 1. Conditions allowing eye formation'. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 43, 453-476.
- Arcos, R.L. (2017) 'Efecto de las condiciones de amasado de queso Oaxaca sobre la supervivencia de bacterias coliformes y ácido lácticas'. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- Ardö, Y. and Pettersson, H. E. (1988) 'Accelerated cheese ripening with heat treated cells of lactobacillus helveticus and a commercial proteolytic enzyme', *Journal of Dairy Research*, 55(2), pp. 239–245. doi: 10.1017/S0022029900026066.
- Atasoy, A. F. *et al.* (2013) 'Effects of partial substitution of caprine for ovine milk on the volatile compounds of fresh and mature Urfa cheeses', *Small Ruminant Research*. doi: 10.1016/j.smallrumres.2013.09.002.
- Baer, A. (1995) 'Influence of casein proteolysis by starter bacteria, rennet and plasmin on the growth of propionibacteria in Swiss-type cheese', *Le Lait*, 75(4–5), pp. 391–400. doi: 10.1016/0023-7302(96)80122-9.
- Barbano, D. M. and Bynum, D. G. (1984) 'Whole Milk Reverse Osmosis Retentates for Cheddar Cheese Manufacture: Chemical Changes During Aging', *J Dairy Sci*. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(84)81644-6.
- Bastian, E. D. and Brown, R. J. (1996) 'Plasmin in milk and dairy products: An update', *International Dairy Journal*, 6(5), pp. 435–457. doi: 10.1016/0958-6946(95)00021-6.
- Balestrieri, M., Spagnuolo, M. S., Cigliano, L., Storti, G., Ferrara, L., Abrescia, P., Fedele, E. (2002) 'Evaluation of oxidative damage in Mozzarella cheese produced from bovine or water buffalo milk'. *Food Chemistry*, 77, 293–299.
- Beresford, T. P. *et al.* (2001) 'Recent advances in cheese microbiology', *International Dairy Journal*, 11(4–7), pp. 259–274. doi: 10.1016/S0958-6946(01)00056-5.

- Beuchat, L. R. and Golden, D. A. (1989) 'Antimicrobials occurring naturally in foods', *Food Technology*, 43(1), pp. 134–142.
- Bills, D. D. and Day, E. A. (1964) 'Determination of the Major Free Fatty Acids of Cheddar Cheese', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 47(7), pp. 733–738. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(64)88754-3.
- Bontinis, T. G. *et al.* (2012) 'Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening', *Small Ruminant Research*. doi: 10.1016/j.smallrumres.2012.01.003.
- Bosset, J. O. and Gauch, R. (1993) 'Comparison of the volatile flavour compounds of six european "AOC" cheeses by using a new dynamic headspace GC-MS method', *International Dairy Journal*, 3(4–6), pp. 359–377. doi: 10.1016/0958-6946(93)90023-S.
- Bourne C. M. (1973) 'Texture measurement of individual cooked dry beans by the puncture test'. *Journal of Food Science*, 37, 751-753.
- Bourne, M., (2002) 'Food texture and viscosity concept and Measurement'. USA, Academic Press.
- Brown, A. D. (1976) 'Microbial water stress', *Bacteriological Reviews*, 40(4), pp. 803–846.
- Brown, H. M. and Emberger, O. (1980) 'Oxidation–Reduction Potential', in ICMSF (ed.) *Microbial Ecology of Foods: factors affecting life and death of microorganisms*. Cambridge: Academic Press Elsevier, pp. 112–125. doi: 10.1016/B978-0-12-363521-1.50013-9.
- Burbank, H. M. and Qian, M. C. (2005) 'Volatile sulfur compounds in Cheddar cheese determined by headspace solid-phase microextraction and gas chromatograph-pulsed flame photometric detection', *Journal of Chromatography A*. doi: 10.1016/j.chroma.2005.01.027.
- Cadwallader, K. R. and Singh, T. K. (2009) 'Flavours and Off-Flavours in Milk and Dairy Products', in McSweeney, P. and Fox, P. F. (eds) *Advanced Dairy Chemistry*. New York, NY: Springer New York, pp. 1–778. doi: 10.1007/978-0-387-84865-5.
- Caro, I., Mateo, J., Franco, F. J. (1999) 'Quesos de pasta hilada: Tecnología del queso Mozzarella II. Características reológicas y/o propiedades funcionales del queso Mozzarella'. *Alimentaria*, 303, 159-163.
- Caro, I. *et al.* (2011) 'Composition, yield, and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: Effects of using skim milk or a dry milk protein concentrate', *Journal of Dairy Science*. doi: 10.3168/jds.2010-3102.
- Caro, I. *et al.* (2013) 'Characterization of Oaxaca raw milk cheese microbiota with particular interest in Lactobacillus strains', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 96(6), pp. 3461–3470. doi: 10.3168/jds.2012-6103.
- Caro, I., Soto, S., Fuentes, L., Gutiérrez-Méndez, N., García-Islas, B., Monroy-Gayosso, K. E., Mateo, J. (2014) 'Compositional, functional and sensory characteristics of selected Mexican cheeses'. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 366-375.
- Carpino, S., Home, J., Melilli, C., Licitra, G., Barbano, D. M., Van Soest, P.J. (2004) 'Contribution of naive pasture to the sensory properties of Ragusano cheese'. *Journal of Dairy Science*, 87, 308-315.
- Caspia, E.L.; Coggins, P.C.; Schilling, M.W.; Yoon Y. y White, C.H. (2006) 'The relationship between consumer acceptability and descriptive sensory attributes in cheddar cheese'. *Journal of Sensory Studies*. 21: 112 – 127.

- Castro Castillo, G. (2013) 'Caracterización de la micromicrobiota de tres quesos tradicionales mexicanos: chihuahua, cincho y oaxaca'. Tesis de licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- CCAYAC-M-004, Estimación de la densidad microbiana por la técnica del número más probable (NMP), detección de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* por NMP.
- Chamorro, M.C. y M.M. Losada, (2002) 'El análisis sensorial de los quesos. España, Mundi prensa'.
- Chaves, A. C. S. D. *et al.* (2002) 'Metabolic Engineering of Acetaldehyde Production by *Streptococcus thermophilus*', *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), pp. 5656–5662. doi: 10.1128/AEM.68.11.5656-5662.2002.
- Cheetham, P. S. J. (2010) *Natural Sources of Flavours, Food Flavour Technology: Second Edition*. doi: 10.1002/9781444317770.ch5.
- Cheng, H. (2010) 'Volatile flavor compounds in yogurt: A review', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10), pp. 938–950. doi: 10.1080/104083909030444081.
- Chich, J. F., Marchesseau, K. and Gripon, J. C. (1997) 'Intracellular esterase from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCDO 763: Purification and characterization', *International Dairy Journal*, 7(2–3), pp. 169–174. doi: 10.1016/S0958-6946(97)00001-0.
- Childs, J.L. y Drake, M. (2009) 'Consumer perception of fat reduction in cheese. *Journal of Sensory Studies*. 24: 902 – 921.
- CIE (2004). *Technical report, colorimetry*. Commission Internationale de L'Eclairage.
- Cogan, T. M. *et al.* (1997) 'Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products', *Journal of Dairy Research*, 64(3), pp. 409–421. doi: 10.1017/S0022029997002185.
- Cogan, T. M. (2000) 'Cheese microbiology', in Fox, P. F. *et al.* (eds) *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: Aspen Publishers.
- Colín-Cruz, M. de L. Á. *et al.* (2012) 'The effect of varying fat content on the microstructure of Oaxaca cheese, a typical pasta hilada cheese', *International Journal of Dairy Technology*. doi: 10.1111/j.1471-0307.2011.00735.x.
- Considine, T. *et al.* (2000) 'Proteolytic specificity of elastase on bovine $\alpha(s1)$ -casein', *Food Chemistry*, 69(1), pp. 19–26. doi: 10.1016/S0308-8146(99)00217-4.
- Conte, A., Scrocco, C., Sinigaglia, M., Del Nobile, M. A. (2007) 'Innovative active packaging systems to prolong the shelf life of Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 90, 2126–2131.
- Coppola, R. *et al.* (1997) 'Survey of lactic acid bacteria isolated during the advanced stages of the ripening of Parmigiano Reggiano cheese', *Journal of Dairy Research*, 64(2), pp. 305–310. doi: 10.1017/S0022029996002038.
- Coppola, S. *et al.* (2001) 'Molecular evaluation of microbial diversity occurring in different types of Mozzarella cheese', *Journal of Applied Microbiology*, 90(3), pp. 414–420. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01262.x.
- Crow, V.L. *et al.* (1995) 'The influence of phage-assisted lysis of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ML8 on cheddar cheese ripening', *International Dairy Journal*, 5(5), pp. 451–472. doi: 10.1016/0958-6946(95)00022-U.
- Crow, V. L. *et al.* (1995) 'The role of autolysis of lactic acid bacteria in the ripening of cheese', *International Dairy Journal*, 5(8), pp. 855–875. doi: 10.1016/0958-6946(95)00036-4.

- D'amico, D. J. (2014) 'Microbiological Quality and Safety Issues in Cheesemaking', *Microbiology Spectrum*, 2(1). doi: 10.1128/microbiolspec.CM-0011-2012.
- Dalgleish, D. G., Law, A. J. R. (1989) 'pH-induced dissociation of bovine casein micelles II. Mineral solubilization and its relation to casein release'. *Journal of Dairy Research*, 56, 727-735.
- Dalsgaard, T. K., Sorensen, J., Bakman, M., Vognsen, L., Nebel, C., Albrechtsen, R., Nielsen, J. H. (2010) 'Light-induced protein and lipid oxidation in low-fat cheeses: whey proteins as antioxidants'. *Dairy Science and Technology*, 91, 171–183.
- De Angelis, M., de Candia, S., Calasso, M. P., Faccia, M., Guinee, T. P., Simonetti, M. C., Gobbetti, M. (2008) 'Selection and use of autochthonous multiple strain cultures for the manufacture of high moisture traditional Mozzarella cheese'. *International Journal Food Microbiology*, 125, 123-132.
- Degeest, B., Vaningelgem, F. and De Vuyst, L. (2001) 'Microbial physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria', *International Dairy Journal*, 11(9), pp. 747–757. doi: 10.1016/S0958-6946(01)00118-2.
- Delgado, F. J. *et al.* (2010) 'Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening', *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 118(1), pp. 182–189. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.081.
- Demarigny, Y. (2014) 'LACTOCOCCUS | *Lactococcus lactis* Subspecies *lactis* and *cremoris*', in *Encyclopedia of Food Microbiology*. Second Edi. Elsevier, pp. 442–446. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00182-8.
- Dimos, A., Urbach, G. E. and Miller, A. J. (1996) 'Changes in flavour and volatiles of full-fat and reduced-fat Cheddar cheese during maturation', *International Dairy Journal*, 6(10), pp. 981–995. doi: 10.1016/S0958-6946(97)84214-8.
- Domínguez-López, A., Villanueva-Carvajal, A., Arriaga-Jordán, C., Espinoza-Ortega, A. (2011). 'Artisan-made and traditional foods: The Oaxaca fresh cheese as study case in central Mexico'. *Estudios Sociales*, 19, 165-193.
- Dufosse, L., Latruse, A. and Spinnler, H. (1994) 'Importance des lactones dans les arômes alimentaires : structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse', *Sciences des aliments*, 14(1), pp. 17–50.
- Dufour, J.-P., Delbecq, P. and Albela, L. P. (2001) 'Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Olfactometry for Analysis of Cheese Aroma', in pp. 123–137. doi: 10.1021/bk-2001-0782.ch011.
- Dunn, H. C. and Lindsay, R. C. (1985) 'Evaluation of the Role of Microbial Strecker-Derived Aroma Compounds in Unclean-Type Flavors of Cheddar Cheese', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 68(11), pp. 2859–2874. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(85)81179-6.
- Eck, A. (1990) *El Queso*. Barcelona: Omega.
- Effendi, G., Chen, H., Kindstedt, P. S., Yun, J. J., Rasmussen, R. R., Barbano, D. M. (1992) 'The influence of rod:coccus starter ratio and storage time on the rheological properties of unmelted Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 75 (S1), 118.
- El-Zahar, K. *et al.* (2003) 'Proteolytic degradation of ewe milk proteins during fermentation of yoghurts and storage', *Nahrung/Food*, 47(3), pp. 199–206. doi: 10.1002/food.200390046.
- Esteban, M. A. and Marcos, A. (1989) 'Chemical prediction of water activity in processed

- cheese', *Journal of Dairy Research*, 56(4), pp. 665–668. doi: 10.1017/S0022029900029198.
- Evert-Arriagada, K. *et al.* (2013) 'Effect of high pressure processing on volatile compound profile of a starter-free fresh cheese', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Elsevier Ltd, 19, pp. 73–78. doi: 10.1016/j.ifset.2013.04.001.
- Farkye, N., Kiely, J., Allshouse, R. y Kindstedt, P. (1991) 'Proteolysis in Mozarella cheese during refrigerated storage'. *Journal of Dairy Science*, 74: 1433-1428.
- Farkye, N. and Fox, P. F. (1992) 'Contribution of plasmin to Cheddar cheese ripening: Effect of added plasmin', *Journal of Dairy Research*, 59(2), pp. 209–216. doi: 10.1017/S0022029900030454.
- Ferrer, L.L. (2014) *Características fisicoquímicas y sensoriales de queso Oaxaca obtenido con bacterias lácticas termofílicas y mesofílicas*. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- Fitzsimons, N. A. *et al.* (1999) 'Phenotypic and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria in mature Cheddar cheese', *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8), pp. 3418–3426.
- Fife, R. L., McMahon, D. J., Oberg, C. J. (1996). 'Functionality of low fat Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 79, 1903-1910.
- Floury, J., Camier, B., Rousseau, F., Lopez, Ch., Tissier, J. P., Famelart, M. H. (2009) 'Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure-texture relationships'. *Food Science and Technology*, 42, 1611-1620.
- Foda, E. A. *et al.* (1974) 'Role of Fat in Flavor of Cheddar Cheese', *Journal of Dairy Science*, 57(10), pp. 1137–1142. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(74)85026-5.
- Folkertsma, B., Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. (1996) 'Accelerated ripening of cheddar cheese at elevated temperatures', *International Dairy Journal*, 6(11–12), pp. 1117–1134. doi: 10.1016/0958-6946(95)00066-6.
- Foucaud, C. and Poolman, B. (1992) 'Lactose transport system of *Streptococcus thermophilus*. Functional reconstitution of the protein and characterization of the kinetic mechanism of transport', *Journal of Biological Chemistry*, 267(31), pp. 22087–22094.
- Fox, P. F. (1989) 'Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening', *Journal of Dairy Science*, 72(6), pp. 1379–1400. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8.
- Fox, P. F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2016) '*Fundamentals of cheese science*', second edition, *Fundamentals of Cheese Science, Second Edition*. doi: 10.1007/978-1-4899-7681-9.
- Fox, P. F. and Law, J. (1991) 'Enzymology of cheese ripening', *Food Biotechnology*, 5(3), pp. 239–262. doi: 10.1080/08905439109549808.
- Fox, P. F., Lucey, J. A. and Cogan, T. M. (1990) 'Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(4), pp. 237–253. doi: 10.1080/10408399009527526.
- Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. (1996) 'Proteolysis in cheese during ripening', *Food Reviews International*, 12(4), pp. 457–509. doi: 10.1080/87559129609541091.
- Fox, P. F., Singh, T. K. and McSweeney, P. L. H. (1995) 'Biogenesis of Flavour Compounds in Cheese', in Malin, E. L. and Tunick, M. H. (eds) *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese*. New York: Plenum Press, pp. 59–98. doi: 10.1007/978-1-4615-1913-3_6.
- Fox, P. F. and Wallace, J. M. (1997) 'Formation of Flavor Compounds in Cheese', in *Advances in*

Applied Microbiology. Elsevier Masson SAS, pp. 17–85. doi: 10.1016/S0065-2164(08)70261-2.

- Franczak, B.C.; Browne, R.P.; McNicholas, P.D. y Findlay, C.J. (2015) 'Product selection for liking studies: The sensory informed design'. *Food Quality and Preference*. 44: 36 – 43.
- Frohlich-Wyder, M. T. and Bachmann, H. P. (2004) 'Cheeses with Propionic Acid Fermentation', in Fox, P. F. *et al.* (eds) *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Third edit. London: Elsevier Academic Press, pp. 141–156.
- Galván, B. (2010) *Efecto de la temperatura de procesamiento sobre la vida de anaquel del queso Oaxaca*. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- Ganesan, B., Irish, D. A., Brothersen, C., McMahon, D. J. (2012) 'Evaluation of microbial survival post-incidence on fresh Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 95, 6891-6896.
- Garcés, E.B., (2010) 'Efecto de la temperatura de proceso sobre la actividad proteolítica de las bacterias lácticas durante la vida de anaquel del queso Oaxaca'. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química, UAEM.
- González, A. (2014) *Evolución de la micromicrobiota láctica y no coliforme en queso Oaxaca artesanal durante el procesamiento y el almacenamiento*. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química, UAEMéx.
- Grappin, R. and Beuvier, E. (1997) 'Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese', *International Dairy Journal*, 7(12), pp. 751–761. doi: 10.1016/S0958-6946(98)00006-5.
- Grappin, R., Rank, T. C. and Olson, N. F. (1985) 'Primary Proteolysis of Cheese Proteins During Ripening. A Review', *Journal of Dairy Science*, 68(3), pp. 531–540. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80855-9.
- Gray, J. I., Irvine, D. M. and Kakuda, Y. (1979) 'Nitrates and N-Nitrosamines in Cheese', *Journal of Food Protection*, 42(3), pp. 263–272. doi: 10.4315/0362-028x-42.3.263.
- Grufferty, M. B. and Fox, P. F. (1988) 'Milk alkaline proteinase', *Journal of Dairy Research*, 55(4), pp. 609–630. doi: 10.1017/S0022029900033409.
- Guinee, T. P., Harrington, D., Corcoran, M. O., Mulholland, E. O., Mullins, C. (2000). 'The compositional and functional properties of commercial Mozzarella, Cheddar and analogue pizza cheeses'. *International Journal of Dairy Technology*, 53, 51-56.
- Hayaloglu, A. A. *et al.* (2013) 'Characterizing volatile compounds and proteolysis in Gokceada artisanal goat cheese', *Small Ruminant Research*. doi: 10.1016/j.smallrumres.2013.01.001.
- Helinck, S. *et al.* (2004) 'Ability of thermophilic lactic acid bacteria to produce aroma compounds from amino acids', *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), pp. 3855–3861. doi: 10.1128/AEM.70.7.3855-3861.2004.
- Hennelly, P. G. (2006) 'Texture, rheological and microstructural properties of imitation cheese containing inulin'. *Journal of Food Engineering*, 75, 388-395.
- Hemme, D., Nardi, M. and Jette, D. (1980) 'Bêta-galactosidases et phospho-bêta-galactosidases de *Streptococcus thermophilus*', *Le Lait*, 60(599–600), pp. 595–618. doi: 10.1051/lait:1980599-60032.
- Henri Beerens and François M. Luquet (1990) *Guía práctica para el análisis microbiológico de la leche y los productos lácteos*. 1a edn. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.
- Holland, R. and Coolbear, T. (1996) 'Purification of tributyrin esterase from *Lactococcus lactis* subsp. cremoris E8', *Journal of Dairy Research*, 63(1), pp. 131–140. doi:

10.1017/s0022029900031605.

- Hols, P. *et al.* (2005) 'New insights in the molecular biology and physiology of revealed by comparative genomics', *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), pp. 435–463. doi: 10.1016/j.femsre.2005.04.008.
- Hutkins, R., Morris, H. A. and McKay, L. L. (1985) 'Galactokinase activity in *Streptococcus thermophilus*', *Applied and Environmental Microbiology*, 50(4), pp. 777–780.
- Hutkins, R. W. and Morris, H. A. (1987) 'Carbohydrate Metabolism by *Streptococcus thermophilus*: A Review', *Journal of Food Protection*, 50(10), pp. 876–884. doi: 10.4315/0362-028X-50.10.876.
- Imm, J. Y., Ong, E. J., Han, K. S., Oh, S., Park, Y. M., Kim, S. H. (2003) 'Functionality and physico-chemical characteristics of bovine and caprine Mozzarella cheeses during refrigerated storage'. *Journal of Dairy Science*, 86, 2790-2798.
- Iyer, R. *et al.* (2010) '*Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria', *International Dairy Journal*. Elsevier Ltd, 20(3), pp. 133–141. doi: 10.1016/j.idairyj.2009.10.005.
- Januszkiewicz, J. *et al.* (2008) 'Optimization of headspace solid-phase microextraction for the analysis of specific flavors in enzyme modified and natural Cheddar cheese using factorial design and response surface methodology', *Journal of Chromatography A*, 1195(1–2), pp. 16–24. doi: 10.1016/j.chroma.2008.04.067.
- Jana, A.H., Mandal, P.K. (2011) 'Manufacturing and Quality of Mozzarella Cheese: A Review' *International Journal of Dairy Science*, 6: 199-226. doi: 10.3923/ijds.2011.199.226.
- Jimeno, J., Lazaro, M. J. and Sollberger, H. (1995) 'Antagonistic interactions between propionic acid bacteria and non-starter lactic acid bacteria', *Le Lait*, 75(4–5), pp. 401–413. doi: 10.1016/0023-7302(96)80123-0.
- Jordan, K. N. and Cogan, T. M. (1993) 'Identification and Growth of Non-Starter Lactic Acid Bacteria in Irish Cheddar Cheese Published by: TEAGASC-Agriculture and Food Development Authority and Growth of Non-Starter Identification Lactic in Irish Cheddar Cheese Acid Bacteria', *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 32(1), pp. 47–55.
- Joshi, N. S., Muthukumarappan, K., Dave, R. I. (2004). 'Effect of calcium on microstructure and meltability of part skim Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 87, 1975-1985.
- Juric, M., Bertelsen, G., Mortensen, G., Petersen, M. A. (2003) 'Lightinduced colour and aroma changes in sliced, modified atmosphere packaged semi-hard cheeses'. *International Dairy Journal*, 13, 239-249.
- Kaya, S. (2002) 'Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining'. *Journal of Food Engineering*, 52, 155–159.
- Kaminarides, S., Stamou, P. and Massouras, T. (2007) 'Changes of organic acids, volatile aroma compounds and sensory characteristics of Halloumi cheese kept in brine', *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.039.
- Kaminogawa, S. *et al.* (1980) 'Degradation of Casein Components by Acid Protease of Bovine Milk', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 63(5), pp. 701–704. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(80)82996-1.
- Khalid, N. M. and Marth, E. H. (1990) 'Lactobacilli — Their Enzymes and Role in Ripening and Spoilage of Cheese: A Review', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 73(10), pp. 2669–2684. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(90)78952-7.

- Khalid, N. M., El Soda, M. and Marth, E. H. (1990) 'Esterase of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 73(10), pp. 2711–2719. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(90)78956-4.
- Kiernan, R. C. *et al.* (2000) 'Autolysis of lactobacilli during Cheddar cheese ripening', *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 39(1), pp. 95–106.
- Kindstedt, P. S. (1993) 'Effect of manufacturing factors, composition and proteolysis on the functional characteristics of Mozzarella cheese'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33, 167–187.
- Kindstedt, P. S. (2001) 'Moisture variations in brine-salted pasta hilada cheese', *Journal of AOAC International*, 84(2), pp. 605–612.
- Kindstedt, P. S. (2004) 'Mozzarella cheese: 40 years of scientific advancement'. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 85-90.
- Klark, S.; Costello, M.; Drake, M.; y Bodyfelt, F. (2009) 'The Sensory Evaluation of Dairy Products'. Second Edition. USA, Springer.
- Kondyli, E. *et al.* (2013) 'Lipolysis and volatile compounds of Galotyri-type cheese made using different procedures', *Small Ruminant Research*. doi: 10.1016/j.smallrumres.2013.04.006.
- Kristensen, D., Orlien, V., Mortensen, G., Brockho, P., Skibsted. L. H. (2000) 'Light-induced oxidation in sliced Havarti cheese packaged in modified atmosphere'. *International Dairy Journal*, 10, 95-103.
- Kubíčková, J. and Grosch, W. (1998) 'Quantification of potent odorants in Camembert cheese and calculation of their odour activity values', *International Dairy Journal*, 8(1), pp. 17–23. doi: 10.1016/S0958-6946(98)00014-4.
- Kunji, E. R. S. *et al.* (1996) 'The proteolytic systems of lactic acid bacteria', *Antonie van Leeuwenhoek*, 70(2–4), pp. 187–221. doi: 10.1007/BF00395933.
- Larráyo, P.; Mendía, C.; Torre, P.; Barcina Y. and Ordoñez, I. (2002) 'Sensory profile of flavor and odor characteristics in roncal cheese made from raw ewe's milk. *Journal of Sensory Studies*'. 17: 415-427.
- Lau, K. Y., Barbano, D.M., y Rasmussen R.R (1991) 'Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in Cheddar cheese during aging'. *Journal of Dairy Science*, 74: 727-740.
- Law, J. and Haandrikman, A. (1997) 'Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria', *International Dairy Journal*, 7(1), pp. 1–11. doi: 10.1016/0958-6946(95)00073-9.
- Lawless, H. T. and Heymann, H. (2010) *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2nd Ed., Springer. 2nd Ed. New York. doi: 10.1007/s00125-007-0902-y.
- Lawrence, R. C., Creamer, L. K. and Gilles, J. (1987) 'Texture Development During Cheese Ripening', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 70(8), pp. 1748–1760. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(87)80207-2.
- Laws, A., Gu, Y. and Marshall, V. (2001) 'Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria', *Biotechnology Advances*, 19(8), pp. 597–625. doi: 10.1016/S0734-9750(01)00084-2.
- Lemieux, L. and Simard, R. E. (1991) 'Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture', *Le Lait*, 71(6), pp. 599–636. doi: 10.1051/lait:1991647.
- Letort, C. and Juillard, V. (2001) 'Development of a minimal chemically-defined medium for the exponential growth of *Streptococcus thermophilus*', *Journal of Applied Microbiology*, 91(6),

pp. 1023–1029. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01469.x.

- Licón, C. C. *et al.* (2012) 'Optimization of headspace sorptive extraction for the analysis of volatiles in pressed ewes' milk cheese', *International Dairy Journal*. Elsevier Ltd, 23(1), pp. 53–61. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.09.003.
- López, J.; Gómez, T.; Hernández, M.; Santiago, R.; Ramón, L.; Juárez, J.; Delgado, F. y Ramirez, E. (2011) 'Mapas externos de preferencias de jueces entrenados y consumidores: comparación del desempeño y determinación de la preferencia'. *Tecnociencia*. 6(1): 9-20.
- Lucey, J. A., Fox, P. F. (1993) 'Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review'. *Journal of Dairy Science*, 76, 1714-1724.
- Luyten, H., van Vliet, T., Walstra, P. (1991) 'Characterization of the consistency of Gouda cheese: Rheological properties'. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 45, 33-53.
- Luyten, H., van Vliet, T. (1996) 'Effect of maturation on large deformation and fracture properties of semi-hard cheeses'. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 50, 295-307.
- Lynch, C. M. *et al.* (1997) 'Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled micromicrobiota', *Lait*, 77(4), pp. 441–459. doi: 10.1051/lait:1997431.
- Montes de Oca-Flores, E. *et al.* (2009) 'Oaxaca cheese: Manufacture process and physicochemical characteristics', *International Journal of Dairy Technology*, 62(4), pp. 535–540. doi: 10.1111/j.1471-0307.2009.00533.x.
- Marino, M., Maifreni, M. and Rondinini, G. (2003) 'Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria', *FEMS Microbiology Letters*, 229(1), pp. 133–140. doi: 10.1016/S0378-1097(03)00816-4.
- Marsili, R. (2007) 'Sensory-Directed Flavor Analysis'. USA. Taylor & Francis Group.
- Martley, F. G. and Crow, V. L. (1993) 'Interactions between non-starter microorganisms during cheese manufacture and reopening', *International Dairy Journal*, 3(4–6), pp. 461–483. doi: 10.1016/0958-6946(93)90027-W.
- McCarthy, C. M. *et al.* (2015) 'Effect of salt and fat reduction on the composition, lactose metabolism, water activity and microbiology of Cheddar cheese', *Dairy Science and Technology*, 95(5), pp. 587–611. doi: 10.1007/s13594-015-0245-2.
- McDonald, L. C. *et al.* (1987) 'A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 53(6), pp. 1382–1384.
- McMahon, D. J., Oberg, C. J., McManus, W. (1993) 'Functionality of Mozzarella cheese. The Australian Journal of Dairy Technology', 48, 99-104.
- McMahon, D. J., Fife, R. L., Oberg, C. J. (1999) 'Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability'. *Journal of Dairy Science*, 82, 1361-1369.
- McMahon, D. J., Paulson, B., Oberg C. J. (2005) 'Influence of calcium, pH, and moisture on protein matrix structure and functionality in directacidified nonfat Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 88, 3754-3763.
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. and Olson, N. F. (1995) 'Proteolysis of bovine caseins by cathepsin D: Preliminary observations and comparison with chymosin', *International Dairy Journal*, 5(4), pp. 321–336. doi: 10.1016/0958-6946(94)00010-M.
- McSweeney, P. L. H. and Sousa, M. J. (2000) 'Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review', *Le Lait*, 80(3), pp. 293–324. doi:

10.1051/lait:2000127.

- Meilgaard, M.; Civille, G.V. y Carr, B.T. (2007) 'Sensory Evaluation Techniques'. 4th Ed. USA, CRC Press, Inc.
- Metzger, L. E., Barbano, D. M., Kindsted, P. S., Guo, M. R. (2001) 'Effect of milk preacidification on low fat Mozzarella cheese: II. Chemical and functional properties during storage'. *Journal of Dairy Science*, 84, 1348-1356.
- Michaylova, M. *et al.* (2007) 'Isolation and characterization of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* from plants in Bulgaria', *FEMS Microbiology Letters*, 269(1), pp. 160–169. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00631.x.
- Mills, S. *et al.* (2006) 'Plasmids of lactococci – genetic accessories or genetic necessities?', *FEMS Microbiology Reviews*, 30(2), pp. 243–273. doi: 10.1111/j.1574-6976.2005.00011.x.
- Mills, S., Ross, R. P. and Coffey, A. (2011) 'Lactic Acid Bacteria | *Lactococcus lactis*', in *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, pp. 132–137. doi: 10.1016/B978-0-12-374407-4.00266-1.
- Montel. M. Ch., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Dominique, A., Vuitton, D. A. D. A., Berthier, F. (2014) 'Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits'. *International Journal Food Microbiology*, 177, 136-154.
- Montes de Oca-Flores, E. *et al.* (2009) 'Oaxaca cheese: Manufacture process and physicochemical characteristics', *International Journal of Dairy Technology*, 62(4), pp. 535–540. doi: 10.1111/j.1471-0307.2009.00533.x.
- Morales-Celaya, M. F. *et al.* (2012) 'Effect of milk pasteurization and acidification method on the chemical composition and microstructure of a Mexican pasta hilada cheese', *LWT - Food Science and Technology*. Academic Press, 45(2), pp. 132–141. doi: 10.1016/J.LWT.2011.08.015.
- Mortensen, G., Bertelsen, G., Mortensen, B. K., Stapelfeldt, H. (2004) 'Light-induced changes in packaged cheeses'. A review. *International Dairy Journal*, 14, 85-102.
- Moschopoulou, E., Anisa, T., Katsaros, G., Taoukis, P., Moatsou, G. (2010) 'Application of high-pressure treatment on ovine brined cheese: Effect on composition and micromicrobiota throughout ripening'. *Innovate and Emerging Technologies*, 11, 543-550.
- Nelson, J. H., Jensen, R. G. and Pitas, R. E. (1977) 'Pregastric Esterase and other Oral Lipases— A Review', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 60(3), pp. 327–362. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(77)83873-3.
- NMX-F-100-1984. Alimentos. Lácteos. 'Determinación de grasa butírica en quesos'. Comité Técnico de Normalización Nacional para la Industria Alimentaria (NALI-10). México.
- NMX-F-608-NORMEX-2002. Alimentos. 'Determinación de proteínas en alimentos'. Comité Técnico de Normalización Nacional para la Industria Alimentaria (NALI-10). México.
- NMX-F-733-COFOCALEC-2012. 'Sistema producto leche – alimentos – lácteos – queso Oaxaca – denominación, especificaciones y métodos de prueba'. Organismo Nacional de Normalización del COFOCALEC. México.
- Nöbel, S., Weidendorfer, K. and Hinrichs, J. (2012) 'Apparent voluminosity of casein micelles determined by rheometry', *Journal of Colloid and Interface Science*, 386(1), pp. 174–180. doi: 10.1016/j.jcis.2012.07.075.

- NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. 'Método para la determinación de Staphylococcus aureus en alimentos'.
- NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. 'Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa'.
- NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. 'Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable'.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. 'Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa'.
- NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. 'Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos'. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Oberg, C. J. *et al.* (1991) 'Effects of Proteolytic Activity of Thermolactic Cultures on Physical Properties of Mozzarella Cheese', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 74(2), pp. 389–397. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78180-0.
- Ogawa, H., Gomi, T. and Fujioka, M. (2000) 'Serine hydroxymethyltransferase and threonine aldolase: Are they identical?', *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 32(3), pp. 289–301. doi: 10.1016/S1357-2725(99)00113-2.
- Oliszewski, R., Cisint, J. C., Núñez de Kairúz, M. (2007) 'Manufacturing characteristics and shelf life of Quesillo, an Argentinean traditional cheese'. *Food Control*, 18, 736–741.
- Ott, A., Germond, J.-E. and Chaintreau, A. (2000) 'Origin of Acetaldehyde during Milk Fermentation Using 13 C-Labeled Precursors', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), pp. 1512–1517. doi: 10.1021/jf9904867.
- Pagliarini, E.; Monteleone, E. y Wakeling, I. (1997) 'Sensory profile description of mozzarella cheese and its relationship with consumer preference'. *Journal of Sensory Studies*. 12: 285-301.
- Parente, E. *et al.* (1997) 'Characterization of natural starter cultures used in the manufacture of Pasta hilada Cheese in Basilicata (Southern Italy)', *International Dairy Journal*, 7(12), pp. 775–783. doi: 10.1016/S0958-6946(97)00093-9.
- Parente, E. and Cogan, T. M. (2004) 'Starter Cultures: General Aspects', in Fox, P. F. *et al.* (eds) *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. London: Elsevier, pp. 123–147. doi: 10.1016/S1874-558X(04)80065-4.
- Parker, D. B. *et al.* (2012) 'Odor and odorous chemical emissions from animal buildings: Part 6. odor activity value', *Transactions of the ASABE*, 55(6), pp. 2357–2368.
- Paula Barros, E. *et al.* (2012) 'Development and validation of automatic HS-SPME with a gas chromatography-ion trap/mass spectrometry method for analysis of volatiles in wines', *Talanta*. Elsevier, 101, pp. 177–186. doi: 10.1016/J.TALANTA.2012.08.028.
- Paulson, B. M., McMahon, D. J., Oberg, C. J. (1998). 'Influence of salt on appearance, functionality, and protein arrangements in nonfat Mozzarella cheese'. *Journal of Dairy Science*, 81, 2053-2064.
- Pedrero, D. L. y Pangborn, R.M., (1989) 'Evaluación Sensorial de los Alimentos'. México, Ed. Alambra Mexicana
- Pérez-Palacios, T. *et al.* (2012) 'Quantification of furanic compounds in coated deep-fried products simulating normal preparation and consumption: Optimisation of HS-SPME analytical conditions by response surface methodology', *Food Chemistry*. doi:

10.1016/j.foodchem.2012.05.100.

- Piveteau, P., Condon, S. and Cogan, T. M. (2000) 'Inability of dairy propionibacteria to grow in milk from low inocula', *Journal of Dairy Research*, 67(1), pp. 65–71. doi: 10.1017/S0022029999004008.
- Poolman, B. (1993) 'Energy transduction in lactic acid bacteria', *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1–3), pp. 125–147. doi: 10.1016/0168-6445(93)90060-M.
- Prentice, J. H., Langley, K. R., Marshall, R. J. (1993) 'Cheese rheology'. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Ed. Fox, P. F. Chapman & Hall, UK. Págs. 303-321.
- Puchades, R., Lemieux, L. and 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), pp. 885–888. doi: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb07905.x.
- Qian, M. C. and Wang, Y. (2005) 'Seasonal variation of volatile composition and odor activity value of "Marion" (*Rubus* spp. hyb) and "Thornless Evergreen" (*R. laciniatus* L.) blackberries', *Journal of Food Science*, 70(1), pp. 13–20. doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09013.x.
- Qian, M. and Reineccius, G. A. (2003) 'Quantification of aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese by a dynamic headspace gas chromatography-mass spectrometry technique and calculation of odor activity value', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 86(3), pp. 770–776. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73658-3.
- Rank, T. C., Grappin, R. and Olson, N. F. (1985) 'Secondary Proteolysis of Cheese During Ripening: A Review', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 68(4), pp. 801–805. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80895-X.
- Retiveau, A., Chambers, D. H., Esteve, E. (2005) 'Developing a lexicon for the flavor description of French cheeses'. *Food Quality and Preference*, 16, 517–527.
- Richardson, G. H. (1985) *Standard methods for the examination of dairy products*. 15th ed. Edited by G. H. Richardson. Washington, D.C: American Public Health Association. Committee on Laboratory Standards and Practices.
- Richoux, R., Roset, G., Famelart, M. H., Kerjean, J. R. (2001) 'Diversité de quelques propriétés fonctionnelles á chaud de l'Emmental Français. INRA, EDP Sciences, 81, 547-559.
- Richoux, R., Aubert, L., Roset, G., Briard-Bion, V., Kerjean, J. R., Lopez, C. (2008) 'Combined temperature–time parameters during the pressing of curd as a tool to modulate the oiling-off of Swiss cheese'. *Food Research International*, 41, 1058–1064.
- Ross, R. P., Stanton, C., Hill, C., Fitzgerald, G. F., Coffey, A. (2000) 'Novel cultures for cheese improvement'. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 96-104.
- Rothe, G. A. L., Harboe, M. K. and Martiny, S. C. (1977) 'Quantification of milk-clotting enzymes in 40 commercial bovine rennets, comparing rocket Immunoelectrophoresis with an activity ratio assay', *Journal of Dairy Research*, 44(1), pp. 73–77. doi: 10.1017/S0022029900019956.
- Rudan, M. A., Barbano, D. M., Ming, R. G., Kinstedt, P. S. (1999) 'Effects of the modification of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis, functionality, and appearance of reduced fat Mozzarella cheese'. *Journal Dairy Science*, 81, 2065-2076.
- Rüegg, M. and Blanc, B. (1981) 'INFLUENCE OF WATER ACTIVITY ON THE MANUFACTURE AND AGING OF CHEESE', in Rockland, L. B. and Stewart, G. F. (eds) *Water Activity: Influences on Food Quality*. New York: Academic Press, pp. 791–811. doi: 10.1016/B978-0-12-591350-8.50036-X.

- Salama, M. S. *et al.* (1995) 'An Ecological Study of Lactic Acid Bacteria: Isolation of New Strains of *Lactococcus* Including *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris*', *Journal of Dairy Science*, 78(5), pp. 1004–1017. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76716-9.
- Salas-Coronado, R. *et al.* (2019) 'Genuine cheeses from Mexico', in Ferreira Guiné, R., dos Reis Correia, P., and Ferrão, A. (eds) *Cheeses around the world. Types, production, properties and cultural and nutritional relevance*. New York: Nova, p. 486.
- Salminen, S., von Wright, A. and Ouwehand, A. (2004) *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects*. Third Edit. Edited by S. Salminen, A. von Wright, and A. Ouwehand. New York: CRC Press.
- Sandine, W. E. and Elliker, P. R. (1970) 'Microbially Induced Flavors and Fermented Foods Flavor in Fermented Dairy Products', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(4), pp. 557–562. doi: 10.1021/jf60170a023.
- Sandoval-Copado, J. *et al.* (2016) 'Sensory profile development of Oaxaca cheese and relationship with physicochemical parameters', *Journal of Dairy Science*. doi: 10.3168/jds.2015-10833.
- Savijoki, K., Ingmer, H. y Varmanen, P., (2006) 'Proteolytics System of Lactic Acid Bacteria'. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 394-406.
- Saxer, S., Schwenninger, S. M. and Lacroix, C. (2013) 'Characterization of the micromicrobiota of industrial Mexican cheeses produced without added chemical preservatives', *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 53(1), pp. 314–320. doi: 10.1016/j.lwt.2013.01.016.
- Scintu, M.; Del Caro, A.; Urgeghe, C. and Di Salvo, R. (2010) 'Sensory profile development for an italian PDO ewe's milk cheese at two different ripening times'. *Journal of Sensory Studies*. 25: 577-590.
- Scott, W. J. (1957) 'Water Relations of Food Spoilage Microorganisms', in *Advances in Food Research*, pp. 83–127. doi: 10.1016/S0065-2628(08)60247-5.
- Sheehan, J. J., Guinee, T. P. (2004). 'Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese'. *International Dairy Journal*, 14, 161–172.
- Sheehan, J. J., Huppertz, T., Hayes, M. G., Kelly, A. L., Beresford, T. P., Guinee, T. P. (2005) 'High pressure treatment of reduced-fat Mozzarella cheese: effects on functional and rheological properties'. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 73-81.
- Siek, T. J. *et al.* (1969) 'Taste Thresholds of Butter Volatiles in Deodorized Butteroil Medium', *Journal of Food Science*, 34(3), pp. 265–265. doi: 10.1111/j.1365-2621.1969.tb10338.x.
- Siek, T. J. *et al.* (1971) 'Comparison of Flavor Thresholds of Aliphatic Lactones with Those of Fatty Acids, Esters, Aldehydes, Alcohols, and Ketones', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 54(1), pp. 1–4. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(71)85770-3.
- Somkuti, G. A. and Steinberg, D. H. (2003) 'Pediocin production by recombinant lactic acid bacteria', *Biotechnology Letters*, 25(6), pp. 473–477. doi: 10.1023/A:1022652028835.
- Sørhaug, T. and Stepaniak, L. (1997) 'Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects', *Trends in Food Science and Technology*, 8(2), pp. 35–41. doi: 10.1016/S0924-2244(97)01006-6.
- Sousa, M.J., Ardö, y, McSweeney, P.L.H. (2001) 'Advances in the Study of Proteolysis During Cheese Ripening'. *International Dairy Journal*, 11, 327-345.
- Steffen, C. *et al.* (1993) 'Swiss-Type Varieties', in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*.

- Boston, MA: Springer US, pp. 83–110. doi: 10.1007/978-1-4615-2648-3_3.
- Stone, H.; Bleibaum, R. y Thomas, H., (2012) 'Sensory evaluation Practices', 4th Edition. USA, Academic Press.
- Sundar, R., Upadhyay, K. G. (1990) 'Effects of standardization of buffalo milk for casein/fat ratio on Mozzarella cheese composition and cheese making efficiency'. *Indian Journal of Dairy Science*, 43, 588-597.
- Thomas, T. D. and Crow, V. L. (1983) 'Mechanism of D(-)-lactic acid formation in Cheddar cheese', *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 18, pp. 131–141.
- Thomas, T. D. and Crow, V. L. (1984) 'Selection of galactose-fermenting *Streptococcus thermophilus* in lactose-limited chemostat cultures', *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), pp. 186–191.
- Torricella, R.; Zamora, E. y Pulido, H., 2007. 'Evaluación Sensorial Aplicada a la Investigación, desarrollo y control de la calidad en la Industria Alimentaria'. Cuba, Editorial Universitaria.
- Trujillo-Rodríguez, M. J. *et al.* (2014) 'Polymeric ionic liquid coatings versus commercial solid-phase microextraction coatings for the determination of volatile compounds in cheeses', *Talanta*. Elsevier, 121, pp. 153–162. doi: 10.1016/J.TALANTA.2013.12.046.
- Tunick, M. H., Mackey, K. L., Smith, P. W., Holsinger, V. H. (1991). 'Effects of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese'. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 45, 117-125.
- Upadhyay, V., McSweeney, P., P. L. H., Magboul, A., Y Fox, P. (2004) 'Proteolysis in Cheese During Reopening'. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, vol 1. General Aspects, 3rd edn. pp.391-434. London. Elsevier.
- Urbach, G. (1993) 'Relations between cheese flavour and chemical composition', *International Dairy Journal*, 3(4–6), pp. 389–422. doi: 10.1016/0958-6946(93)90025-U.
- Urbach, G. (1995) 'Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products', *International Dairy Journal*, 5(8), pp. 877–903. doi: 10.1016/0958-6946(95)00037-2.
- Ureña, M. y D'Arrigo, M., (1999) 'Evaluación Sensorial de los alimentos'. Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- USDA. (1980). USDA 'Specifications for Mozzarella Cheeses'. Agricultural Marketing Service, Washington, DC, USA.
- Vandeweghe, P. and Reineccius, G. A. (1990) 'Comparison of Flavor Isolation Techniques Applied to Cheddar Cheese', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. doi: 10.1021/jf00097a026.
- Van Hekken, D. L., Tunick, M. H., Malin, E. L., Holsinger V. H. (2007) 'Rheology and melt characterization of low-fat and full fat Mozzarella cheese made from microfluidized milk'. *Food Science and Technology*, 40, 89-98.
- Vedamuthu, E. R. (1994) 'The Dairy *Leuconostoc*: Use in Dairy Products', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 77(9), pp. 2725–2737. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77215-5.
- Verdi, R. J. and Barbano, D. M. (1991) 'Effect of Coagulants, Somatic Cell Enzymes, and Extracellular Bacterial Enzymes on Plasminogen Activation', *Journal of Dairy Science*. Elsevier, 74(3), pp. 772–782. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78224-6.
- Villanueva-Carvajal, A. *et al.* (2012) 'Oaxaca cheese: Flavour, texture and their interaction in a Mexican traditional pasta hilada type cheese', *CYTA - Journal of Food*, 10(1), pp. 63–70. doi: 10.1080/19476337.2011.557840.

- Visser, E. M. W. and de GrootMostert A.E.A. (1977) 'Contribution of enzymes from rennet starter bacteria and milk to proteolysis and flavor development in Gouda cheese. 4. Protein breakdown: a gel electrophoretic study.', *Neth. Milk Dairy J.*, 30, pp. 247–264.
- Vorobjeva, L. I. (1999) 'Economic and Medical Applications', in Vorobjeva L.I. (ed.) *Propionibacteria*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 209–243. doi: 10.1007/978-94-017-2803-4_8.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. and Geurts, T. J. (2006) *Dairy Science and Technology*. Second. New York: CRC Press.
- Wang, H. H., Sun, D. W. (2001) 'Evaluation of the functional properties of Cheddar cheese using a computer vision method'. *Journal of Food Engineering*, 49, 49-53.
- Wang, H. H., Sun, D. W. (2003) 'Assessment of cheese browning affected by baking conditions using computer vision'. *Journal of Food Engineering*, 56, 339–345.
- Watkinson, P., Coker, C., Crawford, R., Dodds, C., Johnston, K., McKenna, A., White, N. (2001) 'Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis'. *International Dairy Journal*, 11, 455-464.
- Weber, F. and Ramet, J. P. (1987) 'Comparative technology of the ripening methods of different types of cheese', in Eck, A. (ed.) *Cheesemaking, science and technology*. New York: Lavoiser Publishing, pp. 293–309.
- Wercinski, and J. Pawliszyn, S. A. . (1999) 'SPME Theory', in Wercinski, S. A. S. (ed.) *Solid phase microextraction: A practical guide*. New York: Marcel Dekker, Inc., pp. 1–24.
- Wilkinson, M. G. *et al.* (1994) 'Autolysis and proteolysis in different strains of starter bacteria during Cheddar cheese ripening', *Journal of Dairy Research*, 61(2), pp. 249–262. doi: 10.1017/S0022029900028260.
- Willem de Vos, M. (1996) 'Metabolic engineering of sugar catabolism in lactic acid bacteria', *Antonie van Leeuwenhoek*, 70(2–4), pp. 223–242. doi: 10.1007/BF00395934.
- Wolf, I. V. *et al.* (2010) 'Study of the chemical composition, proteolysis, lipolysis and volatile compounds profile of commercial Reggiano Argentino cheese: Characterization of Reggiano Argentino cheese', *Food Research International*. doi: 10.1016/j.foodres.2010.02.018.
- Xanthopoulos, V., Petridis, D. and Tzanetakis, N. (2001) 'Characterization and classification of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated from traditional Greek yogurts', *Journal of Food Science*, 66(5), pp. 747–752. doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04632.x.
- Yazici, M., Dervisoglu, M., Akgun, A., Aydemir, O. (2010) 'Effect of whey pH at drainage on physicochemical, biochemical, microbiological and sensory properties of Mozzarella cheese made from buffalo milk during refrigerated storage'. *Journal of Dairy Science*, 93, 5010-5019.
- Yun, J. J., Kiely, L. J., Barbano, D. M., Kindstedt, P. S. (1993) 'Mozzarella cheese: Impact of cooking temperature on chemical composition, proteolysis and functional properties'. *Journal of Dairy Science*, 76, 3664-3673.
- Yun, J. J., Barbano, D. M., Kiely, L. J., Kindstedt, P. S. (1995) 'Mozzarella cheese: Impact of rod to coccus ratio on chemical composition, proteolysis and functional characteristics'. *Journal of Dairy Science*, 78, 751–760.
- Zamora, E., (2007) 'Evaluación Objetiva de la Calidad Sensorial de Alimentos procesados. Cuba,

Editorial Universitaria'.

Zarate, V., Belda, F., Perez, C., Cardell, E. (1997) 'Changes in the microbial microbiota of Tenerife goats milk cheese during ripening'. *Journal of Dairy Science*, 7, 635-641.

Zisu, B., Shah, N. P. (2005) 'Textural and functional changes in low-fat Mozzarella cheeses in relation to proteolysis and microstructure as influenced by the use of fat replacers, pre-acidification and EPS starter'. *International Dairy Journal*, 15, 957-972.

Zoon, P., Allersman, D. (1996) 'Eye and crack formation in cheese by carbon dioxide from decarboxylation of glutamic acid'. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 50, 309-318.