

300627  
6  
2ij



**UNIVERSIDAD LA SALLE**

---

---

ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

"DESARROLLO DE SABOR EN UN ANALOGO DE  
QUESO UTILIZANDO LIPASAS Y SABORIZANTES  
ARTIFICIALES"

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA :

**MARTHA GAY SEGURA**

I.Q. ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO

MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Doy gracias a Dios por brindarme la oportunidad de tener  
una profesión que me ha llenado de grandes satisfacciones,  
llevándome al inicio de una nueva etapa en la vida,  
sin olvidar el apoyo de la gente que ha estado conmigo.*

*Con cariño para mis padres que me han  
dado todo su apoyo y dedicación*

*A mis hermanas Malena, Clemen y Lupita  
quienes han compartido conmigo cada  
momento*

*Para quienes hicieron gratos los tiempos  
de estudio, mis compañeros Semi, Ana,  
Gabriel y Radamés*

*Por tantos años de sincera amistad les  
dedico este logro a Laurita, Claudia,  
Lupita y Carmelita*

*Agradezco el apoyo y cariño de la  
Familia Cerdán para la realización de  
este trabajo*

*A Consuelo y Eleazar por compartir sus  
conocimientos y su valioso tiempo*

*Con amor para Alfredo quien me motiva  
a seguir adelante*

## INDICE

<b>CAPITULO 1.</b>	<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
1.1.	QUESOS NATURALES	1
1.1.1.	GENERALIDADES	1
1.1.2.	DEFINICION	1
1.1.3.	CLASIFICACION	2
1.1.4.	COMPOSICION	2
1.1.5.	PROCESO DE ELABORACION	5
1.1.5.1.	ESTANDARIZACION DE LA LECHE	5
1.1.5.2.	PASTEURIZACION	5
1.1.5.3.	ADICION DE COLORANTE	6
1.1.5.4.	MADURACION DE LA LECHE	6
1.1.5.5.	COAGULACION DE LA LECHE	8
1.1.5.6.	CORTE Y COCCION DE LA CUAJADA	10
1.1.5.7.	DESUERADO Y UNION DE LA CUAJADA	11
1.1.5.8.	SALADO Y PRENSADO	11
1.1.5.9.	APLICACIONES ESPECIALES Y MADURACION	11
1.1.6.	QUESO TIPO CHIHUAHUA	14
1.1.7.	ABASTO DE LECHE PARA LA FABRICACION DE QUESO EN MEXICO	15
1.2.	ANALOGOS DE QUESO	16
1.2.1.	ANTECEDENTES	16
1.2.2.	DEFINICION	16
1.2.3.	CLASIFICACION Y USOS	17
1.2.3.1.	ANALOGOS DE HUMEDAD ELEVADA	17
1.2.3.2.	ANALOGOS DE HUMEDAD INTERMEDIA	18
1.2.3.3.	ANALOGOS DE BAJA HUMEDAD	18
1.2.4.	PRINCIPALES COMPONENTES	18
1.2.4.1.	PROTEINA	19
1.2.4.2.	SALES EMULSIFICANTES	21
1.2.4.3.	GRASA	22
1.2.4.4.	ACIDO	23
1.2.4.5.	OTROS COMPONENTES	24
1.2.5.	PROCESO DE ELABORACION	24
1.2.6.	VENTAJAS Y DESVENTAJAS	27

1.2.7.	EVALUACION SENSORIAL .....	30
1.2.7.1.	PRUEBA DE PREFERENCIA .....	33
1.2.7.2.	PRUEBA DE NIVEL DE AGRADO .....	34
1.2.7.3.	PRUEBA TRIANGULAR .....	35
1.3.	AROMA Y SABOR .....	36
1.3.1.	GENERALIDADES .....	36
1.3.2.	MECANISMOS DE PRODUCCION DEL SABOR ...	36
1.3.3.	COMPONENTES DEL SABOR EN QUESOS NATURALES .....	38
1.3.4.	DESARROLLO DE SABOR EN ANALOGOS DE QUESO .....	43
1.4.	ENZIMAS LIPOLITICAS EN EL DESARROLLO DE SABOR .....	44
1.4.1.	GENERALIDADES .....	44
1.4.2.	ACTIVIDAD ENZIMATICA EN LA PRODUCCION DE SABORES .....	44
1.4.3.	ACTIVIDAD DE ENZIMAS LIPOLITICAS EN LA PRODUCCION DE SABOR .....	46
1.4.3.1.	LIPASAS MICROBIANAS .....	51
1.4.4.	ACTIVIDAD DE ENZIMAS PROTEOLITICAS EN LA PRODUCCION DE SABOR .....	60
CAPITULO 2.	OBJETIVOS .....	61
CAPITULO 3.	MATERIALES Y METODOS .....	62
3.1.	DESARROLLO DE LA FORMULACION Y SUSTITUCION DE GRASA BUTIRICA POR GRASA VEGETAL .....	62
3.2.	DETERMINACION DE LA CONCENTRACION Y TIEMPO DE ACCION DE LA ENZIMA LIPOLITICA SOBRE LA GRASA BUTIRICA .....	66
3.3.	ELABORACION DE ANALOGOS DE QUESO APLICANDO DIFERENTES GRADOS DE LIPOLISIS .....	66
3.4.	ELABORACION DE ANALOGOS DE QUESO CON DISTINTOS SABORIZANTES ARTIFICIALES .	67
3.5.	EVALUACION SENSORIAL .....	67

3.6.	ELABORACION DE ANALOGOS DE QUESO COMBINANDO LOS METODOS DE PRODUCCION DE SABOR .....	68
<b>CAPITULO 4.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSION .....</b>	<b>69</b>
4.1.	FORMULACION DESARROLLADA Y ANALISIS FISICOQUIMICO .....	69
4.2.	ACCION LIPOLITICA DE LA ENZIMA .....	72
4.3.	EVALUACION SENSORIAL .....	76
4.3.1.	ANALISIS DE VARIANZA PARA EL GRUPO DE ANALOGOS CON GRASA MODIFICADA ENZIMATICAMENTE .....	76
4.3.2.	ANALISIS DE VARIANZA DE LOS ANALOGOS ELABORADOS CON SABOR ARTIFICIAL .....	77
4.3.3.	ANALISIS DE VARIANZA PARA EL GRUPO DE ANALOGOS DE QUESO COMBINANDO AMBOS METODOS DE SABORIZACION .....	78
4.3.4.	ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS ANALOGOS MEJOR CALIFICADOS .....	80
<b>CAPITULO 5.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>81</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>		

## INDICE DE CUADROS

1.	COMPOSICION DE DISTINTAS CLASES DE QUESO POR 100 gr . . . . .	4
2.	CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL QUESO TIPO CHIHUAHUA . . . . .	15
3.	METODOS DE EVALUACION SENSORIAL . . . . .	32
4.	MECANISMOS RESPONSABLES DEL SABOR Y OLOR EN LOS ALIMENTOS . . . . .	37
5.	LIPOLISIS EN EL CURSO DE LA MADURACION . . . . .	40
6.	COMPUESTOS DEL SABOR EN QUESOS . . . . .	41
7.	CONDICIONES DE INACTIVACION EN DIVERSAS LIPASAS MICROBIANAS . . . . .	52
8.	ACIDOS GRASOS LIBRES EN DIVERSOS PRODUCTOS . . . . .	54
9.	COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS LIBRES EN QUESO TIPO MOZZARELLA Y CHEDDAR . . . . .	56
10.	FORMULACION TIPO DE ANALOGO DE QUESO . . . . .	63
11.	FORMULACION DESARROLLADA . . . . .	70
12.	ANALISIS FISICOQUIMICO DEL ANALOGO . . . . .	71
13.	ACIDOS GRASOS LIBRES POR Kg DE QUESO . . . . .	75
14.	ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL DE LOS ANALOGOS CON DISTINTOS GRADOS DE LIPOLISIS . . . . .	76
15.	ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL DE LOS ANALOGOS CON SABORIZANTES ARTIFICIALES . . . . .	78
16.	ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL DE LOS ANALOGOS COMBINANDO AMBOS METODOS DE SABORIZACION . . . . .	79
17.	ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL DE LOS ANALOGOS MEJOR CALIFICADOS DE CADA GRUPO . . . . .	80

## INDICE DE GRAFICAS

1. ACTIVIDAD ENZIMATICA 0.0072% LIPASA ..... 74
2. ACTIVIDAD ENZIMATICA 0.3% LIPASA ..... 74

# CAPITULO 1

# INTRODUCCION

## 1.1. QUESOS NATURALES

### 1.1.1. GENERALIDADES

El queso es uno de nuestros alimentos más importantes, nutritivos y sabrosos. Se halla en casi todas las partes del mundo, tanto en cantidad como en variedad.

La gran variedad de quesos se debe no sólo a la inventiva del hombre, sino a muchos otros factores que contribuyen a su elaboración: clima, vegetación, desarrollo económico del lugar, especie de animales lecheros, gusto y costumbres nacionales (1).

La aplicación del desarrollo de la microbiología y de la tecnología a los conocimientos y a la experiencia tradicionales, ha hecho que el arte de la quesería se esté transformando cada vez más en una verdadera ciencia y hoy en día es posible producir en cualquier localidad un tipo de queso con características semejantes a las de los productos típicos de lugares lejanos (2).

### 1.1.2. DEFINICION

El queso puede ser definido como el producto resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche, por medio de una coagulación.

Con el propósito de obtener los sólidos esenciales de la leche a una forma concentrada, la leche es cuajada, ya sea por el desarrollo de bacterias productoras de ácido, o por el cuajo. El suero es separado de la cuajada más o menos completamente. Por medio de la manipulación de esta última, el uso de temperaturas especiales de curación y de agentes específicos de maduración, es posible manufacturar una gran variedad de quesos con propiedades y composiciones diferentes (2).

### **1.1.3 CLASIFICACION**

Existe un elevado número de tipos de quesos, pero es difícil establecer una división rígida entre ellos, por lo que las características que se pueden usar para agruparlos son múltiples y no siempre son comunes a todas las variedades. Por ejemplo, en referencia al método de coagulación, se dividen en quesos ácidos y de cuajo.

En cuanto a la maduración se agrupan en frescos, no madurados y quesos madurados; estos últimos a su vez se subdividen en quesos madurados por bacterias y madurados por hongos.

En relación a textura y abertura, se dividen en: con hoyos y sin hoyos.

Tomando en consideración la consistencia, se clasifican en: quesos blandos, semi-duros y duros.

Según el método de manufactura y tratamiento del grano, se agrupan en quesos de pasta cruda y de pasta cocida (2).

Por la corteza se clasifican en: sin corteza, corteza seca, flora blanca mohosa, mancha rojo-anaranjada y quesos de venillas azules.

También se tipifican por su contenido de grasa, por la forma y el peso, etc (1).

### **1.1.4. COMPOSICION**

La composición de los quesos varía de un tipo a otro; y dicha variación depende, principalmente, de los contenidos de agua y grasa. La cantidad de agua está determinada por la forma en que la coagulación y el desuerado son efectuados (4). En los quesos de humedad elevada, la cuajada ha experimentado en general una fermentación láctica activa, que ha desmineralizado más o menos fuertemente la pasta, que es blanda. En los quesos de poca humedad, la cuajada es firme y a veces dura, presentando retención de las sales de calcio (3).

Los fabricantes de queso pueden regular la humedad en el queso variando el procedimiento para prepararlo, como el grado de finura ó de tosquedad al cortar la cuajada, la temperatura al calentarla, el grado de acidez, la cantidad de sal usada y la manipulación de la misma (7).

El contenido graso en el queso depende de la cantidad inicial en la leche (4).

La cuajada formada en las primeras etapas de la fabricación del queso, está compuesta por la mitad aproximadamente del total de los sólidos de la leche entera. Contiene virtualmente toda la grasa butírica y la caseína, alrededor de 2/3 del calcio, gran parte de la vitamina A, 1/4 de la riboflavina y alrededor de 1/6 de la tiamina con respecto a la leche original. La lactosa, las proteínas del suero y el resto de los minerales y vitaminas, permanecen en el suero.

El destino de los nutrientes de la cuajada durante la fermentación depende del tipo de queso. Los quesos duros y semiduros pueden llegar a perder pequeñas cantidades de nutrientes con el suero expelido durante el prensado, sin embargo, la actividad bacteriana durante la maduración conduce a la síntesis de algunas vitaminas hidrosolubles a consecuencia, por ejemplo, del desarrollo del moho *Penicillium* (5).

La parte no grasa del queso está formada en 85 a 91% por materias nitrogenadas y el resto representa las sales y los productos derivados de la lactosa. La materia nitrogenada más importante es la caseína, la cual es degradada y se hace parcialmente soluble durante la maduración.

La lactosa es transformada en ácido láctico durante los primeros 10 días, posteriormente el ácido desaparece casi completamente en los quesos muy maduros (3).

Las sales minerales, determinadas como cenizas, varían de 0.90 a 2.60% (4). El contenido de sales naturales, procedentes de la leche, depende estrechamente de la forma de fabricación y en particular de la acidificación durante el desuerado. La proporción de los minerales que quedan en el queso, sobre todo el calcio, es tanto más baja cuanto más desarrollada se encuentra la acidez (pastas blandas); el contenido de

sales es más elevado en los quesos de pasta dura (3).

El queso es sin duda un excelente alimento. Todos los quesos contienen una gran proporción de proteínas. Y todos, excepto los quesos frescos, son una buena fuente de calcio y son ricos en grasas, esto último representa un buen aporte de energía (5).

**CUADRO 1.  
COMPOSICION DE DISTINTAS CLASES DE QUESO POR 100 gr**

	<b>DURO</b>	<b>SEMDURO</b>	<b>AZUL</b>	<b>BLANDO</b>	<b>BLANDO</b>
	<b>CHEDDAR</b>	<b>EDAM</b>	<b>ROQUEFORT</b>	<b>CAMEMBERT</b>	<b>FRESCO</b>
Agua (g)	35	43	40	51	79
Grasa (g)	33	24	31	23	0.4
Proteínas (g)	26	26	21	19	16.9
Calcio (g)	0.83	0.76	0.32	0.38	0.09
Vitamina A (equivalentes de retinol mg)	380	250	300	240	3
Tiamina (mg)	50	60	30	50	30
Rivoflavina (mg)	0.50	0.35	0.70	0.45	0.28
Contenido energético (kJ)	1670	1330	1500	1180	340
(kcal)	400	320	360	280	82

**FUENTE: PORTER, J.W.G. (1975).**

Los quesos son definidos, en la mayoría de los casos, por su contenido de extracto seco total (EST) o sólidos totales (ST), que varía desde 25 hasta 75%, así como por su contenido de materia grasa con base en ST, la cual oscila entre 40 a 50% en quesos producidos a partir de leche entera con 3.30 a 3.50% de grasa inicial (4).

### **1.1.5. PROCESO DE ELABORACION**

La elaboración de los quesos naturales, en general, comprende las operaciones que a continuación se enlistan.

#### **1.1.5.1. ESTANDARIZACION DE LA LECHE.**

La leche antes del cuajado puede ser sometida a uno o varios tratamientos para proporcionar al producto final el contenido en grasa deseado, se puede ajustar la composición de la leche ya sea añadiendo crema, descremando, o adicionando leche descremada o sólidos lácteos no grasos.

#### **1.1.5.2. PASTEURIZACION.**

La pasteurización de la leche utilizada en la elaboración de queso persigue las siguientes finalidades (33):

- Destrucción de todos los gérmenes patógenos.
- Reducción de la flora banal al nivel más bajo posible, con el fin de mejorar la conservación del producto y facilitar la sustitución de la microflora espontánea por cepas seleccionadas, de tal forma que en los quesos fabricados con leche pasteurizada se obtienen menos defectos y una calidad más uniforme.
- Aumento en el rendimiento quesero (1-10%), debido a la desnaturalización de las proteínas solubles, mayor retención de la materia grasa en la cuajada e insolubilización de una

parte de las sales minerales.

Los problemas técnicos que se pueden llegar a presentar son los siguientes (33):

- Maduración más lenta que en los fabricados con leche cruda, seguramente porque muchas de las bacterias presentes originalmente en la leche se destruyen y algunas de las enzimas naturales de ésta se inactivan.
- Producción de una cuajada más blanda, por las albúminas y globulinas precipitadas con la caseína.
- Disminución de la aptitud para la coagulación por el cuajo, debido a la desmineralización.

#### **1.1.5.3. ADICION DE COLORANTE.**

Después de que la leche se estandariza se adiciona anatto, un colorante vegetal, la cantidad depende del tipo de queso (8).

El anatto o achiote (Bixa orellana) es una semilla blanca, cuyo interior está cubierto por una delgada capa altamente coloreada. Los principios colorantes de la semilla de achiote son, la bixina, que es amarilla, y la orellina que es roja.

Otros colorantes usados son el azafrán y el caroteno.

Los colorantes se usan para dar un aspecto más atractivo a la masa del queso (2).

#### **1.1.5.4. MADURACION DE LA LECHE.**

La maduración de la leche puede llevarse a cabo en dos formas (33):

- Conservación de la leche cruda durante un tiempo variable, corrientemente el de duración de la noche a temperatura de

10 a 15°C. Este método presenta la desventaja de que no solo se desarrollan los microorganismos acidificantes favorables, sino también algunos indeseables.

- Siembra con cultivos lácticos, ya que con el uso de la pasteurización se volvió necesario sustituir las floras naturales en la leche por floras seleccionadas y controladas, producidas en condiciones técnicas que garanticen una estandarización rigurosa (2).

La adición de cultivos lácticos a la leche permite que las bacterias de los cultivos iniciadores se ajusten a su nuevo ambiente y produzcan ácido láctico para activar la renina (8).

El ácido láctico producido por estos cultivos tiene varias acciones importantes:

- Promueve la formación del coágulo.
- Contribuye a evitar el crecimiento de microorganismos indeseables.
- Facilita la retracción del coágulo y contribuye al desuerado.
- Afecta la elasticidad del coágulo terminado y promueve la fusión del mismo en una masa sólida.
- Afecta la naturaleza y extensión de los cambios enzimáticos y ayuda así a determinar las características del queso.

Los cultivos de uso universal son bacterias que fermentan la lactosa con producción de ácido láctico y generalmente, se usan mezclados con bacterias que fermentan el ácido cítrico y citratos con producción de elementos de aroma.

Entre las bacterias lácticas puras se usa especialmente **Streptococcus lactis** y **Streptococcus cremoris**.

El porcentaje de cultivos usados varía con el tipo de queso. En

forma general, se adiciona entre 1-2% para algunos quesos duros y 0.5-1% para otros tipos de queso, semi-blandos y semi-duros (2).

#### **1.1.5.5. COAGULACION DE LA LECHE.**

Coagulación es el término usado para describir el cambio de la leche de su estado líquido a sólido, o mejor dicho el paso de un coloide complejo a una solución coloidal semisólida por precipitación de la caseína.

Para comprender los cambios que ocurren durante la coagulación, es necesario describir brevemente la naturaleza de las proteínas de la leche.

Las proteínas de la leche se pueden dividir en proteínas del suero y caseína entera (33):

- **Proteínas del suero:**  
Se trata de una mezcla de holoproteínas que no contienen más que aminoácidos y de glicoproteínas que contienen también glúcidos. Las principales proteínas que quedan en el suero después de la precipitación de la caseína consisten de: albúmina sérica bovina, beta-lactoglobulina, alfa-lactoalbúmina y componentes de la fracción conocida como proteasa-peptona (33). Estas proteínas no son afectadas por el cuajo y se precipitan por acción del calor (2).
- **Caseína entera:**  
La conversión de la leche en queso depende de las propiedades de la caseína (7).  
  
La caseína es el principal constituyente nitrogenado de la leche y se encuentra en su estado normal bajo la forma de grandes partículas coloidales esféricas, micelas, de fosfocaseinato de calcio, constituido por proteína, cantidades específicas de calcio y radicales fosfóricos, así como porcentajes menos abundantes de magnesio y radicales citricos.

En gran parte de las partículas, el calcio, el fósforo orgánico y el fósforo inorgánico mantienen la relación 5-2-2. Existen 3 fracciones principales de caseína: alfa, beta y kappa.

Estas partículas se encuentran en equilibrio bajo la forma de una suspensión coloidal, el cual está condicionado en parte por el contenido fosfocálcico. Este equilibrio es bastante frágil y muy sensible a modificaciones de variada naturaleza, en la fabricación del queso se aprovecha esta relativa inestabilidad para la consecuente coagulación de la leche.

En la producción del queso se pueden usar como agentes coaguladores el ácido o el cuajo (2).

La coagulación por medio de ácidos provoca la destrucción de las micelas sin fraccionar la caseína, cuya precipitación es total hacia pH 4.7. El fosfocaseinato experimenta una degradación doble, con migración progresiva del calcio coloidal hacia la solución. La caseína isoelectrica está completamente exenta de calcio y no contiene más que fósforo proteínico. Esta desmineralización es la característica principal de la caseína precipitada por acidificación. El coágulo formado pierde toda su flexibilidad y el queso queda siempre granuloso (33).

La coagulación ácida es usada para producir quesos blandos, frescos o madurados, con fermentación en la superficie.

El principio activo del cuajo es la quimosina (renina), que es una enzima proteolítica que tiene la propiedad de hidrolizar los enlaces peptídicos de las proteínas (2).

La coagulación con cuajo del caseinato de calcio de la leche tiene lugar en dos fases. En la fase primaria o enzimática, la renina hidroliza la kappa-caseína, teniendo como resultado la separación de la fracción hidrofílica soluble que contiene los residuos ácidos, el grupo fosfato y las unidades de carbohidrato de la fracción hidrofóbica. Este proceso invierte la carga de la kappa-caseína haciéndola más sensible a la precipitación con iones calcio.

Durante la fase secundaria o no enzimática, las micelas modificadas

se agregan en la presencia de ion calcio. Conforme el poder estabilizante de la kappa-caseína es destruido por la acción enzimática, la carga en la superficie de las micelas se reduce, haciéndolas más susceptibles a la presencia de ion calcio y permitiendo interacciones intermicelares con la consiguiente coagulación. Los globulos de grasa de la leche y el suero quedan atrapados dentro de la estructura de la paracaseína (33).

La coagulación por acción del cuajo se utiliza para la fabricación de la mayor parte de los quesos maduros, semi duros y duros (2).

La caseína desempeña tres funciones en la fabricación del queso: aprisiona en la cuajada los glóbulos de grasa y las sales en forma de fosfatos; retiene suero en cantidades suficientes para permitir la maduración del queso, y es el material responsable en gran parte de la textura del queso (7).

#### **1.1.5.6. CORTE Y COCCION DE LA CUAJADA.**

Todos los tipos de queso sufren sinéresis, expulsando de esta manera suero retenido en el coágulo. Esta pérdida de agua da mayor firmeza a la cuajada, determina y condiciona la consistencia final del queso, su contenido en lactosa y por tanto en ácido láctico con sus repercusiones fisicoquímicas y bacteriológicas correspondientes (33).

El corte de la cuajada tiene por finalidad provocar y acelerar la salida del suero (2).

El corte de la cuajada se lleva a cabo varias veces en la superficie de la misma. Esto conduce a una efectiva expulsión del suero y permite obtener cubos de igual tamaño que podrán cocerse uniformemente. Los cubos grandes producirán un queso con humedad elevada, por el contrario los pequeños producirán un queso con menor humedad.

El objetivo de la cocción de la cuajada es contraer las partículas y liberar el suero; además influye en la textura, proporciona tiempo para el desarrollo de ácido láctico e igualmente evita daños en la cuajada por el desarrollo de microorganismos. Su control determina la humedad final del queso.

#### **1.1.5.7. DESUERADO Y UNION DE LA CUAJADA.**

Su objetivo es separar el suero y concentrar y unir la cuajada. También, durante el desuerado se prolonga el tiempo para el desarrollo de ácido láctico por las bacterias.

#### **1.1.5.8. SALADO Y PRENSADO.**

El salado consiste en esparcir sal sobre la superficie de la cuajada, ya sea manual, mecánicamente o por inmersión en salmuera.

El salado proporciona sabor, textura y apariencia al queso. Controla la fermentación láctica una vez que ha alcanzado su punto óptimo y evita alteraciones por microorganismos. El salado también reduce la humedad, utilizándose como un control en el queso final.

En general se adiciona de 1-10% de sal. El salado debe ser uniforme para no afectar la apariencia del queso.

El prensado se lleva a cabo en prensas de madera ó de metal, en bolsas de tela con ó sin peso externo, ó apilando las cuajadas.

El prensado le proporciona forma y una textura compacta al queso, elimina suero y completa la unión de la cuajada.

#### **1.1.5.9. APLICACIONES ESPECIALES Y MADURACION.**

En este paso encontramos un área de procedimientos de gran flexibilidad. Se encuentran el cremado en el queso cottage, la homogenización en el queso crema y la adición de microorganismos especiales a la cuajada del queso madurado.

Incluye también la adición de enzimas microbianas para el desarrollo del sabor. Estas aplicaciones especiales son necesarias para cada tipo de queso (8).

La formación del aroma y del sabor no constituyen la única finalidad

de la maduración, sino que además debe dar al queso la textura deseada en la masa y su aspecto típico exterior (3).

La maduración de los quesos se debe a la combinación de la acción de una serie de factores como son las enzimas del cuajo, los microorganismos y las enzimas inherentes a la leche.

Muchos tipos de bacterias y hongos intervienen en el proceso de maduración. En cada tipo existe, en general, una secuencia definida de los organismos y de las enzimas que trabajan en fases sucesivas de la maduración sin que en realidad exista una línea de demarcación nítida entre la serie de modificaciones químicas.

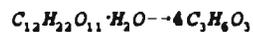
Se podría dividir la maduración en dos fases principales:

La primera, la de pre-maduración, sería aquella en que se verifican los cambios en la lactosa e incluyen la degradación primaria de la caseína.

La segunda, la de la maduración verdadera, en que, a expensas de algunos de los productos formados en la primera fase y de la grasa, se forman los olores y sabores característicos del queso.

La transformación de la lactosa por acción bacteriana en ácido láctico empieza aún antes de agregar el cuajo a la leche, y continúa a través de todo el proceso de trabajo de la cuajada.

La transformación de la lactosa en ácido láctico se representa por la siguiente reacción (2):



**Lactosa      Ac. Láctico**

A medida que se va formando el ácido láctico, reacciona con el paracaseinato dicálcico de la cuajada, e irá desplazando al calcio poco a

poco, para formar paracaseinato monocálcico; cuando haya exceso de ácido láctico éste atacará al paracaseinato monocálcico para formar paracaseína libre y lactato de calcio (2).

*Paracaseinato dicálcico + Ac. láctico -> Paracaseinato monocálcico + Lactato de calcio*

*Paracaseinato monocálcico + Ac. láctico -> Paracaseína libre + Lactato de calcio*

Las propiedades del paracaseinato monocálcico y la paracaseína libre son muy diferentes. Al primero se le atribuye la elasticidad, plasticidad y ductibilidad del queso.

Si la producción de ácido aumenta durante mucho tiempo, la cuajada pierde gran parte de su elasticidad presentando una consistencia dura y quebradiza, por la formación de paracaseína libre (33).

La degradación de la caseína, proteólisis, es el fenómeno más importante de la maduración, ya que afecta a la vez a la textura y al sabor (3).

La degradación proteínica en los quesos es debida especialmente a las enzimas del cuajo y de los microorganismos.

El cuajo presenta la doble función de cuajar la leche y desdoblar el paracaseinato en compuestos solubles hasta el nivel de proteasas y peptonas, siendo posible que en algunos casos, libere también polipéptidos.

A su vez, los microorganismos durante su desarrollo pueden actuar por medio de las ectoenzimas "proteasas" y descomponer la caseína hasta el nivel de las peptonas y después de su autólisis, las ectoenzimas liberadas, polipeptidasas, pueden desdoblar los productos nitrogenados intermedios, liberados por el cuajo o los microorganismos, a ácidos aminados (histidina, tirosina, lisina) (2).

En medios ligeramente alcalinos, algunos microorganismos pueden

desaminar en seguida los ácidos aminados con formación de amoníaco y ácidos grasos (2). Todos estos compuestos contribuyen a la formación del aroma del queso (3).

La degradación de la grasa o lipólisis, tiene un papel importante en la formación del aroma; por el contrario no provoca modificaciones notables en la textura del queso (3).

Las lipasas activas en el queso proceden de los microorganismos, principalmente de los mohos y de los micrococos (3). La grasa es hidrolizada con la consecuente liberación de varios ácidos grasos volátiles.

Los principales son: ácido butírico, caproico, caprílico y cáprico. En los quesos duros estos ácidos son los responsables de su sabor y olor característicos; en los quesos blandos, el sabor es más fuerte y picante por la degradación de los ácidos grasos volátiles en metil cetonas (2).

#### **1.1.6. QUESO TIPO CHIHUAHUA**

Entre los quesos de mayor consumo en nuestro país, se encuentra el conocido como tipo Chihuahua; el cual es un queso duro, madurado por bacterias. Su composición y proceso de elaboración son semejantes a las del queso Cheddar.

Presenta una alta demanda por los consumidores debido a su sabor más o menos pronunciado y textura firme, así como por sus excelentes propiedades fundentes.

El queso Chihuahua es el producto que se obtiene a partir de leche pasteurizada entera de vaca, sometida a los procesos de coagulación, cortado, desuerado, fermentado, salado, prensado y madurado durante un período de 1 a 6 meses a temperatura y humedad controladas; sin que se halla empleado en su elaboración grasas o proteínas no provenientes de la leche (34).

Las especificaciones físicas y químicas del queso tipo Chihuahua se presentan en el siguiente cuadro:

**CUADRO 2.  
CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL QUESO TIPO CHIHUAHUA**

	<b>MINIMO</b>	<b>MAXIMO</b>
Humedad (%)	-	45.0
Grasa Butírica (%)	26.0	-
Proteína (%)	22.0	-
Sólidos Totales (%)	55.0	-
pH	5.0	5.5
Cenizas Totales (%)	-	6.5
Cloruro de Sodio (%)	-	3.0

**FUENTE: NORMA OFICIAL MEXICANA (1985).**

### **1.1.7 ABASTO DE LECHE PARA LA FABRICACION DE QUESO EN MEXICO**

No obstante la reconocida importancia de la leche como alimento, México es un país deficitario en la producción de este líquido, en una magnitud tal que lo ha colocado como el mayor importador mundial.

En 1990, la producción nacional de leche fluida alcanzó tan sólo los 9 500 millones de litros, cantidad insuficiente para satisfacer las necesidades de 82 millones de habitantes.

La deficiencia en el abasto de leche tiene efecto no solamente sobre el

mercado de consumo directo, sino también en las industrias procesadoras de lácteos, entre las que destaca por su demanda, la que produce quesos, donde el problema mencionado tiene consecuencias directas, ya que la materia prima fundamental para su fabricación es la leche.

Para dimensionar la importancia de esta industria, basta señalar que, del total de leche disponible en el país, el 14% se destina a este rubro.

Lo anteriormente mencionado así como la necesidad de contar con alimentos nutritivos de bajo costo y la de tener productos adecuados a regímenes de alimentación especiales han provocado la aparición de análogos de queso, los cuales pueden significar la solución a estos problemas.

## **1.2. ANALOGOS DE QUESO**

### **1.2.1. ANTECEDENTES**

Desde 1971, los análogos de queso se encuentran disponibles en el mercado de Estados Unidos. Son numerosos los factores que provocaron su aparición, entre los que se pueden citar: la disminución en la producción de leche que propició el cierre de muchas empresas queseras, a tal grado que en 1960 había 1419 compañías y para 1973 sólo quedaban 865; en forma paralela la demanda de queso ha ido en aumento.

### **1.2.2. DEFINICION**

Los análogos de queso son productos en los cuales alguna o toda la grasa de leche es reemplazada por aceites vegetales. Se componen principalmente de agua, leche, proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales (12).

Dentro de los análogos de queso se encuentran las "imitaciones de queso", productos semejantes a un queso natural pero nutricionalmente inferiores y los "sustitutos de queso", que no son quesos naturales, pero nutricionalmente son semejantes (14).

La mayor diferencia entre el queso natural y los análogos de queso la constituye el tipo de grasa que se puede encontrar en los productos. El queso natural se elabora con grasa de leche, una grasa saturada; mientras que los aceites vegetales usados en los análogos son en su mayoría grasas insaturadas (12).

### **1.2.3. CLASIFICACION Y USOS**

Examinando la composición de varios tipos de análogos de queso, clasificados arbitrariamente por su contenido de humedad, se ha demostrado cómo sus características específicas de funcionalidad confieren a cada tipo una aplicación en particular:

#### **1.2.3.1. ANALOGOS DE HUMEDAD ELEVADA (47% aprox).**

Generalmente un análogo de queso con humedad elevada contiene grasa vegetal hidrogenada. En su mayoría los caseinatos funcionan como porción proteínica, aprovechando las propiedades que esta sal presenta: alta absorción de agua, elevada solubilidad y poder emulsificante.

De preferencia se usan los caseinatos de calcio y de sodio, siendo el de calcio el más conveniente por su contribución en este mineral usada para igualar el nivel de dicho elemento al presente en el queso natural.

Para simular el sabor característico a queso se adiciona queso natural sólo o combinado con sabonizantes naturales o artificiales. El resto de la formulación son ácidos, colorantes, emulsificantes, estabilizantes, conservadores y agua.

Usualmente se usan en combinación con quesos naturales para lograr un sabor, textura y fusión óptimos; se utilizan por ejemplo para la elaboración de pizzas y en guarnición para ensaladas. Su aplicación se encuentra limitada para reemplazar al queso natural en aderezos para ensaladas, ya que los caseinatos usados en este tipo de análogos provocan defectos en textura a valores bajos de pH.

### **1.2.3.2 ANALOGOS DE HUMEDAD INTERMEDIA (45% aprox).**

Estos análogos son microbiológicamente estables debido a su reducida actividad de agua y no requieren refrigeración. Sus características organolépticas a temperatura ambiente, después de 6 meses, son aceptables. Los componentes que forman la matriz en estos productos son harina y grasa vegetal hidrogenada.

Estos productos son usados para sustituir al queso natural en alimentos procesados, como salchichas; en alimentos fríos preparados y en aquellos deshidratados.

### **1.2.3.3. ANALOGOS DE BAJA HUMEDAD (2% aprox) A BASE DE GRASA.**

La grasa vegetal hidrogenada es el mayor componente en la matriz de estos quesos. Requieren en su formulación de queso deshidratado para desarrollar el sabor, mismo que se intensifica agregando saborizantes artificiales.

Los productos de baja humedad tienen aplicación en mezclas secas, alimentos congelados y como aderezos (11).

### **1.2.4. PRINCIPALES COMPONENTES**

Los análogos de queso son elaborados principalmente con ingredientes comunes: grasas vegetales y compuestos auxiliares, por ejemplo ácido sórbico y sus sales; junto con agua, saborizantes, colorantes, proteínas, acidulantes y sales emulsificantes. Los últimos dos ingredientes son usados para proporcionar cuerpo al análogo a través del control de pH. Este control de pH es también necesario para lograr una mayor vida de anaquel. La adición de sales de ácido sórbico y un pH adecuado pueden inhibir el crecimiento microbiano (14).

En la elaboración de análogos de queso se forma una emulsión en caliente a partir de proteína, una grasa de composición apropiada, agua y sales. En esta emulsión, los agentes saborizantes y colorantes se incorporan para impartir el aroma y color deseados (18).

#### **1.2.4.1. PROTEINA.**

Un ingrediente importante en la elaboración de un queso análogo es la proteína, este componente puede variar dependiendo de la fuente de suministro y de los requerimientos del sistema (17).

El constituyente básico y proteína, de costo relativamente bajo, en los análogos de queso es la caseína (14).

La caseína es un producto derivado de la leche, comúnmente se produce a través de la acidificación de la porción libre de grasa de un producto de leche hasta la formación de la cuajada. Esta cuajada se puede formar con el empleo de ácidos minerales, tales como los ácidos sulfúrico y clorhídrico ó mediante ácido láctico, este último generado por microorganismos lácticos.

La cuajada de caseína se lava varias veces para eliminar los residuos de sales y lactosa. Posteriormente se prensa para eliminar agua y después se pasa por secadores de aire caliente donde el contenido de humedad se reduce aproximadamente hasta el 10%, finalmente se somete a molienda. La caseína es soluble a un pH entre 6.8-7.3.

Comercialmente la caseína se encuentra como un polvo seco o granular, de caseína seca pura ó caseína mezclada con tierra alcalina; también se encuentra combinada con hidróxido de calcio para producir caseinato de calcio.

La caseína seca, tanto en forma de polvo como granular, contiene la mayoría de los compuestos proteínicos de la leche entera. Su almacenamiento y manejo son más fáciles y económicos y además presenta un precio por proteína menor que el de la leche entera. Por lo anterior, la caseína es un producto altamente comercializado en todo el mundo (20).

Algunas proteínas solubles, como el caseinato de sodio, son esenciales para proporcionar textura y cuerpo al análogo (14).

Se prefiere el caseinato de sodio, pero también se puede utilizar la caseína o sus formas de sales de calcio en conjunto con secuestrantes iónicos como son el pirofosfato tetrasódico y el fosfato de aluminio y sodio, que permiten una completa solubilidad de la proteína (17).

La desventaja del empleo de caseinato de calcio es que, bajo las condiciones a las que se lleva a cabo el proceso, sus propiedades son muy críticas, por ejemplo, la emulsión tiende a romperse. Los caseinatos alcalinos, como el caseinato de sodio, se ajustan de mejor forma a las condiciones del proceso, pero el producto resultante causa una sensación de caucho al comerse (18).

La combinación funcional de caseinato de sodio y proteína de suero de queso, es útil al formular quesos para untar y salsas de queso (17).

El caseinato de sodio es un buen agente emulsificante; últimamente se han realizado varios estudios sobre sus propiedades funcionales, habilidad para estabilizar emulsiones, y comportamiento en adsorción de interfases.

El caseinato está compuesto por cuatro diferentes proteínas: alfa s1, alfa s2, Beta y kappa caseinas, en proporción de peso de aproximadamente 4:1:4:1, las que son co-precipitadas a un pH de 4.6. Es de esperarse que durante la formación de la emulsión todos los tipos de caseinas puedan ser adsorbidas en la interfase.

Estudios mediante electroforesis en leche han demostrado que todas las caseinas están realmente presentes en la superficie de los glóbulos de grasa, en aproximadamente las mismas proporciones que en la leche. Sin embargo en este último caso las caseinas aparecen como micelas o micelas rotas parcialmente, mientras que en el caseinato de sodio forman menos agregados.

Las caseinas individuales son adsorbidas tanto en las interfases aire/agua y aceite/agua y disminuyen la tensión interfacial. La B-caseína se adsorbe más rápidamente y provoca una gran disminución en la tensión superficial; es también la más hidrofóbica de las caseinas. La k-caseína y la alfa s2 caseína contiene residuos de cistina que pueden formar cadenas de bisulfuro tanto intra como intermoleculares y no son capaces de extenderse en la superficie como la B-caseína. La k-caseína no es un buen estabilizador de la emulsión (21).

En el desarrollo de un análogo de queso tipo Mozzarella, un rasgo crítico del invento se encuentra en el uso de un mínimo de 70% de caseinato de sodio, como componente de caseinato. Es posible usar arriba del 30% de caseinato de calcio con el caseinato de sodio u otro tipo de proteína, como

proteína de soya, de cacahuete ó de algodón.

El uso de mínimo 70% de caseinato de sodio se requiere para obtener la cualidad de estiramiento en el producto final semejante a la de un queso Mozzarella natural (13).

La proteína de soya también se puede utilizar para suministrar toda o parte de la proteína total, siempre y cuando se haya hidrolizado durante la extracción. Conforme mayor parte de proteína de soya se emplee, más importante será que esta proteína esté hidrolizada. Esto es necesario para mantener la viscosidad de la mezcla en condiciones de ser manejable.

Cada tipo de queso a imitar tiene características particulares, de tal manera que los tipos de proteína y los niveles de la misma deberán ajustarse para lograr las distintas texturas y propiedades (17).

#### **1.2.4.2. SALES EMULSIFICANTES.**

Una de las formas más efectivas para controlar las propiedades del queso la constituye el uso de sales emulsificantes. Las más comunmente utilizadas son: citrato de sodio, fosfato de sodio y aluminio (SALP), fosfato monosódico (MSP), fosfato disódico (DSP), fosfato trisódico (TSP), pirofosfato tetrasódico (TSP), tri-polifosfato de sodio (STPP), hexa-metafosfato de sodio (SHMP) y metafosfato insoluble (IMP). Todas estas sales tienen la misma tendencia a ligar el calcio, incluyendo el contenido en los fragmentos de proteína. También pueden modificar el pH del queso, pero su función principal es atrapar calcio.

El calcio remanente de los fragmentos de proteína disminuye su solubilidad en agua, y por tanto también su poder de emulsificación. Las sales emulsificantes remueven el calcio intercambiándolo por sodio, aumentando así la emulsificación de las proteínas. Ya que estas sales no son liposolubles, no tienen acción directa sobre la porción hidrofóbica de las proteínas.

Las sales emulsificantes más apreciadas en la elaboración de análogos, son aquellas que ligan débilmente al calcio, formando una emulsión débil que produce un queso suave ó semiduro con propiedades fundentes. Entre éstas se encuentran el citrato de sodio, SALP, DSP y TSP (15).

El punto de fusión de los análogos de queso se puede ajustar más fácilmente por simple variación del tipo y cantidad de sales emulsificantes, usualmente fosfatos (14).

#### **1.2.4.3. GRASA.**

El componente graso tiene un impacto importante en la textura del producto, así como también sobre su valor calórico (17).

Una grasa con bajo punto de fusión proporciona al queso la propiedad de fundirse al introducirlo a la boca y le confiere simultáneamente las cualidades deseadas de estabilidad en condiciones ambientales y las sensaciones de frescura y sabor.

Las grasas comúnmente usadas en la elaboración de análogos de queso, están compuestas de un 70-78% por una grasa suave y 22-30% de triglicéridos esterificados. Las grasas suaves pueden ser de origen animal, vegetal ó marino. Los triglicéridos tienen ácidos grasos, encontrando un 87-97% de ácido láurico y aproximadamente 3% de ácidos palmítico y esteárico.

Otro tipo de estas grasas de bajo punto de fusión está compuesta por 50-80% de una grasa suave y 20-50% de un componente con punto de fusión intermedio, que tiene ácidos grasos insaturados en un 60%.

Para proporcionar la textura y apanencia deseadas, similar a la de un queso natural, es esencial que la grasa de bajo punto de fusión se encuentre presente en una proporción de 10-40% en peso con respecto a la composición total del producto (19).

Generalmente se usa una grasa vegetal, ya sea altamente poliinsaturada como el aceite de maíz y el aceite de cártamo, ó parcialmente hidrogenada como el aceite de coco, soya, palma, algodón o cualquier otro (20).

La grasa vegetal usada de preferencia debe presentar un punto de fusión cercano ó más alto que la temperatura del cuerpo, buena estabilidad y sabor suave.

#### 1.2.4.4. ACIDO.

La cantidad de ácido usada es crítica para las propiedades sensoriales del análogo. Generalmente el ácido puede adicionarse en un rango tan amplio como 0.2-3.0%, pudiendo alcanzarse valores de pH entre 5-6. El rango que se recomienda está entre 5.2-5.8.

Se ha observado que la cantidad de ácido añadida controla el grado de fundido del queso en su cocimiento y también determina que el producto quede blanco o dorado. En la elaboración de un análogo de queso Mozzarella, a un pH entre 5.2-5.4, se obtuvieron las propiedades óptimas.

Un alto contenido de ácido evita el tostado y disminuye las características de fusión del queso, afectando la elasticidad; por el contrario, un bajo contenido de ácido causa el tostado y la formación de corteza, fundiendo el queso sólo por debajo.

Se han obtenido resultados satisfactorios utilizando 1-3% de ácido láctico; es también posible usar ácido clorhídrico, ácido acético, así como una mezcla de agua, ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético y sabores artificiales. El ácido adípico también puede utilizarse (13).

**FUSION.** Los factores que controlan el comportamiento del queso al fundirse son:

- El estado de maduración de las proteínas (estado de digestión).
- La acidez o el pH.
- La composición salina del emulsificante. Sin sales emulsificantes la pasta se vuelve hulosa y otras veces granulosa.

Uno de los factores que influye notablemente en la consistencia es la humedad. Los quesos fundidos para tajar tienen, en general, alrededor de 41-44% de humedad.

Entre las sales utilizadas para fundir quesos está el citrato de sodio.

Una sal para fundir debe tener las siguientes propiedades:

- Ser un poderoso agente emulsificante, capaz de convertir, con

acción del calor, la masa granular del queso en una emulsión suave, cremosa y fluida.

- Al enfriar esta emulsión debe solidificarse, formando un queso de cuerpo firme, textura suave y buenas cualidades de corte.
- La sal no debe interferir en el sabor y aroma del queso.
- Con la conservación, no debe descomponerse o cristalizarse.
- Debe ser fácilmente soluble en poca agua.
- Debe ser económica y pura.

Las propiedades de las sales de fusión deben ser consideradas con relación al pH del queso (2).

#### **1.2.4.5. OTROS COMPONENTES.**

La adición del ión calcio en forma de sal es importante, los iones libres de calcio, al reaccionar con la proteína proporcionan elasticidad, tostado y punto de fusión bajo. Se pueden utilizar hidróxido de calcio o carbonato de calcio, pero el cloruro de calcio es el que se usa tradicionalmente como aditivo en la industria quesera (13).

Los niveles de cloruro de sodio en el queso pueden resaltar el sabor sin exceder los límites dietéticos. El sorbato de potasio se sugiere como preservativo para evitar el crecimiento de hongos y levaduras (17). El cloruro de sodio se usa para dar sabor (13).

Se pueden emplear como matenas colorantes emulsiones estables de extracto de semilla de achiote con tonos naranjas proporcionados por la oleoresina de la paprika, dependiendo de la preferencia (17).

#### **1.2.5. PROCESO DE ELABORACION.**

Un proceso continuo prioritario en la elaboración de un queso análogo consiste básicamente en los siguientes pasos: preparación de la mezcla, pasteurización, enfriamiento y solidificación de la emulsión (18).

Todos los productos de queso son básicamente emulsiones aceite/agua. El queso natural es casi una emulsión perfecta, estabilizada por surfactantes

naturales, las proteínas de la leche. Sin embargo, estas proteínas son severamente afectadas, desnaturalizadas, durante el proceso, especialmente por el calor de la pasteurización y por cambios de pH. Una depresión en este último parámetro tan pequeña como de media unidad, puede provocar disminución de la textura y separación de la grasa.

El fenómeno más importante en la elaboración de un análogo de queso es precisamente la emulsificación. Los quesos contienen una fase de grasa y sustancias oleosolubles y una fase acuosa que consiste en una solución acuosa de proteínas hidrosolubles y minerales.

Estas dos fases no son compatibles por naturaleza, pero son emulsificadas por proteínas activas en su superficie, solubles en ambas fases, por lo que tienden a formar interfases.

La superficie de cualquier material requiere de energía para permanecer estable. La estabilidad es mayor cuando las moléculas de una sustancia dada están completamente rodeadas de otras similares. Para las moléculas superficiales esto no es posible, las moléculas de la capa externa se encuentran tocando otras de diferentes tipos, con las que no son compatibles; éste es el origen de la energía superficial.

Una sustancia que tienda a adoptar una forma donde el área superficial sea mínima, va a reducir la energía que se genera en este sistema. Una esfera tiene la menor superficie y, siempre que sea posible, ésta es la forma que adoptará. El material tiende también a coagular en una sola masa, una esfera larga tiene menor área superficial que varias esferas pequeñas.

La forma esférica ideal es a menudo modificada por otras fuerzas, como la gravedad, por lo que la tendencia de la separación de las fases, disminuyendo el área superficial, está siempre presente.

Los agentes superficiales activos se disuelven parcialmente en las dos fases, coadyuvando a su unión. Si la emulsión es lo suficientemente fuerte como para evitar la separación de las fases, entonces la emulsión tiende a presentar gotitas largas de una de las fases flotando en la otra.

Para mejorar la emulsificación, las gotitas tienden a ser pequeñas (aumentando el área superficial) y aproximándose a un estado de total

homogenización.

En la emulsificación del queso, esto tiene implicaciones importantes en la textura. En los quesos donde hay una escasa emulsificación, se presentan grandes glóbulos de grasa suspendidos en las proteínas contenidas en la fase acuosa. Las proteínas son el soporte de los glóbulos de grasa. Esto significa que cuando se aplica una presión, la grasa se deforma, seguida de las proteínas y el queso aparece suave.

Por otro lado, en el caso de una emulsificación perfecta, los glóbulos de grasa son muy diminutos y se encuentran casi perdidos en la cadena proteínica de la fase acuosa. En este caso el queso tiende a ser duro y no funde.

Las proteínas estructurales y emulsificantes más importantes en los quesos son la caseína o fragmentos de caseína. Para la mayoría de los tipos de caseína, una región terminal de la proteína de caseína contiene grupos de fosfato de calcio y contiene esencialmente toda la carga de la proteína, el otro extremo es de naturaleza orgánica y no polar.

El extremo del fosfato es soluble en agua, mientras que el extremo orgánico es liposoluble, lo que proporciona a la proteína sus propiedades emulsificantes. Estas propiedades emulsificantes pueden ser modificadas por varios factores: la cantidad de calcio en el extremo con fosfato de calcio, el pH del queso, el periodo de maduración y la temperatura a la que es sometido el queso durante el proceso.

El calcio afecta la solubilidad, entre mayor cantidad de calcio se encuentre presente, disminuirá la solubilidad del extremo hidrosoluble de la proteína y por tanto se tendrá menor poder de emulsificación. El pH del queso afecta la configuración de la proteína, a ciertos valores de pH las proteínas tienden a enrollarse formando esferas y disminuyen sus interacciones con fases circundantes.

Las proteínas tienden también a fragmentarse cuando una enzima actúa sobre ellas, esto podría o no ayudar a la emulsificación. El calentamiento daña a las proteínas y disminuye sus propiedades emulsificantes. El productor de quesos puede llegar a tener control sobre estas variables (15).

El pH del queso altera la configuración de la proteína y su solubilidad, así como la eficiencia de las sales emulsificantes para ligar calcio. Todas las proteínas presentan una gran variedad de cargas positivas y negativas situadas a lo largo de la cadena; dependiendo de su longitud y naturaleza será el exceso de uno de los dos tipos de cargas, la proteína tiene una estructura abierta, debido a la repulsión entre cargas iguales.

Cuando el pH de una solución circundante se aproxima al valor del punto isoelectrico, las cargas positivas y negativas en la proteína se van equilibrando gradualmente bajo la influencia de los iones en solución. El punto isoelectrico será cuando las cargas se encuentren perfectamente balanceadas, la proteína se enrolla disminuyendo su solubilidad y su interacción con otras proteínas.

Las proteínas del queso tienen su punto isoelectrico alrededor de un pH de 5. En condiciones normales, el pH del queso se encuentra arriba de este valor, habiendo un exceso de cargas negativas en la proteína. Cuando el pH del queso es cercano a 5 pueden suceder dos fenómenos: (1) El queso se desmorona porque las uniones entre las proteínas se han roto, y (2) la grasa no está emulsionada.

Por otra parte, si el pH aumenta, las uniones entre las cadenas de proteína y la solubilidad mejoran, formando un queso más elástico y mejor emulsificado. Un pH arriba de 6.5 es excesivo y no se encuentra dentro de los rangos normales en los productos de queso (15).

#### **1.2.6. VENTAJAS Y DESVENTAJAS**

La popularidad de los análogos de queso se debe a las ventajas que presentan, como su consistencia y la estabilidad en su oferta, en comparación con las desventajas que tiene un queso natural, como son su corta vida de anaquel, necesidad de refrigeración y su variación en sabor, textura, precio y oferta (11).

Además un queso análogo puede presentar características de textura y cualidades sensoriales similares a las de un queso natural (19).

Desde el punto de vista nutricional, los análogos de queso representan

una buena alternativa en comparación con un queso natural, ya que presentan por lo menos las mismas cualidades que los productos naturales y cuando se requiera inclusive pueden presentar ventajas nutricionales (13).

Por ejemplo: las vitaminas y minerales pueden modificarse en cuanto a contenido, mejorando el aporte del queso natural, es decir, el análogo es un producto que se presta a la fortificación.

Las proteínas pueden utilizarse en los mismos niveles que en el queso y en el caso de las grasas, éstas pueden ser de origen vegetal, poliinsaturadas, o bien integradas con determinado tipo de ácidos grasos, de tal manera que ofrezcan ciertas características dietéticas con objeto de mantener la buena salud.

La ventaja más importante de estos productos sobre los naturales son los bajos niveles de colesterol y de grasas saturadas en comparación con un queso natural (20).

En la actualidad el interés sobre una buena nutrición va en aumento, fomentado por las campañas de orientación alimentaria y nutricional que desarrolla el gobierno a través de la Comisión Nacional de Alimentación y organismos coordinados.

Especial atención han recibido las personas que padecen disturbios metabólicos, acentuados por una dieta inconveniente. Tal sería el caso de las enfermedades cardiovasculares, destacando la aterosclerosis, donde las dietas ricas en grasas de origen animal y por ende en colesterol, potencian el problema.

Como información que delimite aún más la importancia de la situación, baste señalar que a partir del año de 1980, las enfermedades cardiovasculares son consideradas como las principales causas de muerte en la República Mexicana.

El uso de los aceites vegetales en la elaboración de análogos de queso reemplaza las grasas de alto costo utilizadas comúnmente, proporcionando a los sustitutos de queso una enorme ventaja económica sobre el producto natural.

Aparte de las atracciones obvias por la disminución de costo, los sustitutos de queso ofrecen otras ventajas sustanciales a los productores de alimentos, la primera de éstas es la de ser un producto consistente, ya sea en color, fundido, estiramiento o apariencia general.

Este no siempre es el caso con el queso natural donde su color, sabor y en ocasiones su "cuerpo", pueden variar dramáticamente en el curso de los años (12).

Otra de las ventajas es que ha habido mejoría técnica en la elaboración de los análogos y en los componentes usados para su manufactura. En su elaboración se evita la producción de ácido por microorganismos, que se emplean convencionalmente en la elaboración del queso (13).

Considerado como producto de desecho, también se evita la formación de suero, que esta acompañado de la necesidad de separarlo y disposición del mismo (20). En conclusión, el proceso para la elaboración de un análogo de queso puede ser semi-continuo, contra un proceso en lotes que se tiene en la fabricación convencional del queso (13).

El productor del análogo de queso puede reunir características funcionales improvisadas que le ofrecen un beneficio específico (20).

Puesto que la elaboración de análogos de queso es relativamente simple, en comparación con la de queso natural, los gastos de proceso son menores. Estos ahorros hacen que la producción de análogos de queso sea muy atractiva al consumidor y al fabricante de productos alimenticios que contienen rellenos de queso o queso rallado.

El procesamiento a temperaturas por arriba de 80°C y la incorporación de conservadores, aumentará la vida de anaquel del producto (17).

Un análogo de queso de humedad elevada tiene una vida de anaquel de aproximadamente 6 meses en refrigeración (11).

Por la ventaja que representa en el costo se han desarrollado numerosos procesos para elaborar análogos de queso con caseína (20).

Las cualidades de sabor deseadas y el tratamiento del producto final

pueden ser especificados por el proveedor para su uso. El punto de fusión, la elasticidad, el "cuerpo" o la textura, y la estabilidad microbiológica son características que pueden controlarse en la manufactura de un análogo de queso ofreciendo grandes ventajas y ahorros amba del 60% en comparación con un queso natural.

Nuevas aplicaciones y nuevos mercados se están desarrollando favorablemente. El empleo de análogos de queso en pizzas, lasagna, enchiladas y otros alimentos que contienen quesos procesados es creciente.

El crecimiento en el mercado ha sido más lento de lo esperado. Sin embargo, el desarrollo técnico en las formulaciones, saborización y procesamiento ha avanzado continuamente y con resultados favorables.

El perfeccionamiento de los sabores, variedades adicionales y cualidades deseables han hecho aplicaciones económicas y prácticas muy ventajosas para la industria de los alimentos hoy en día (14).

### 1.2.7. EVALUACION SENSORIAL

En la formulación y desarrollo de los análogos de queso es primordial considerar su aceptación por el consumidor, por lo que su evaluación sensorial constituye una determinación importante en su fabricación.

La evaluación sensorial se ocupa de la medición y cuantificación de las características de un producto, ingrediente o modelo, las cuales son percibidas por los sentidos humanos. Entre dichas características se pueden mencionar, por su importancia:

**Apariencia:** color, tamaño, forma, conformación, uniformidad.

**Olor:** los miles de compuestos volátiles que contribuyen al aroma.

**Gusto:** dulce, amargo, salado y ácido (posiblemente también metálico, astringente y otros).

**Textura:** las propiedades físicas como dureza, viscosidad, granulosidad.

**Sonido:** aunque de poca aplicación en alimentos, se correlaciona con la textura; por ejemplo, crujido, tronido, efervescencia.

Algunos otros sistemas sensoriales secundarios contribuyen a la percepción, particularmente a través de los labios y la parte interior de la boca, zonas que son muy sensibles al dolor y a la temperatura.

Desde luego, es complejo el uso de pruebas sensoriales para establecer los atributos que contribuyen a la calidad de un alimento u otros productos. Insume tiempo, implica mucho trabajo, está sujeto a error debido a la variabilidad del juicio humano y, por consiguiente es costoso.

Sin embargo, no existen instrumentos mecánicos o eléctricos que puedan duplicar o sustituir el dictamen humano.

Las respuestas sensoriales son muy complejas debido a la integración simultánea de señales múltiples (aparición, aroma, gusto, textura, sonido, etc.), las cuales el juez asocia con su experiencia pasada, los efectos contextuales y su anticipación a la emisión de su juicio.

El análisis sensorial tiene múltiples aplicaciones: En determinación de normas; establece los criterios de calidad y referencias a través de los cuales la materia prima, los ingredientes y el producto terminado pueden ser clasificados, calificados y evaluados.

En control de calidad; determina pautas sensoriales de los productos, las cuales deben ser consideradas desde la manufactura, durante la manipulación y almacenamiento de los mismos, con el fin de mantener las normas comerciales, así como la aceptación por parte del consumidor.

En el desarrollo de nuevos productos ayuda en la formulación o modificación de los ya existentes, al tratar de mantener las características sensoriales **deseadas**.

En la correlación con medidas físicas, químicas o instrumentales permite desarrollar cálculos de propiedades sensoriales de manera más inmediata y reproducible.

También se utiliza en la medición de la percepción humana tanto

afectiva, discriminativa y fisiológica.

Los métodos de evaluación sensorial se dividen básicamente en métodos analíticos (a nivel de laboratorio) y métodos afectivos (a nivel del consumidor).

**CUADRO 3.  
METODOS DE EVALUACION SENSORIAL**

**I. METODOS ANALITICOS**

A. Sensitivo	B. Cuantitativo	C. Cualitativo
1. Umbral a) Límites b) Ajuste c) Frecuencia	1. Gradiente a) Ordenación b) Intervalos c) Estimación por magnitudes	1. Análisis descriptivo a) Perfil del sabor b) Perfil por dilución c) Perfil de textura d) Análisis cuantitativo e) Análisis descriptivo
2. Diferenciación a) Comparación por pares b) Dúo - Trio c) Doble referencia d) Triangular	2. Diferenciación a) Comparación por pares b) Dúo - trio c) Doble referencia d) Triangular	2. Duración a) Tiempo - intensidad
	3. Duración a) Tiempo - intensidad	

**II. METODOS AFECTIVOS**

A. Aceptación	B. Preferencia	C. Hedónico
Aceptación o rechazo cuando no hay opciones.	Selección entre dos o más opciones.	Nivel de Agrado.

FUENTE: PEDRERO Y PANGBORN (1989).

Es muy extensa la explicación que se le puede dar a cada uno de los métodos de análisis sensorial, por lo que se desarrollarán únicamente los utilizados en la presente investigación.

#### **1.2.7.1. PRUEBA DE PREFERENCIA.**

Se utiliza un método afectivo para evaluar sensorialmente los análogos de queso, la prueba de preferencia, en la cual se ordena, según las opiniones de un grupo de consumidores, un par o una serie de muestras de acuerdo con un aprecio personal o una preferencia.

Se maneja por lo menor un par o una serie de muestras que serán objeto de un arreglo por el juez afectivo, según su preferencia. Las muestras no necesariamente deben ser homogéneas. El mínimo de muestras que deben evaluarse por sesión, se determina por la naturaleza del estímulo, el tipo de consumidor e incluso la ambientación en la que dicha prueba se desarrolle.

La población elegida como juez-afectivo para la evaluación debe corresponder a los consumidores potenciales o habituales del producto en estudio. Estas personas no deben conocer la problemática del estudio, sino sólo entender el procedimiento de la prueba y responder a ella.

Los resultados se tabulan y analizan por ordenamiento por rangos.

La ventaja de esta prueba es que es sencilla de entender y no requiere de entrenamiento. La preferencia indica orden y no necesariamente que la muestra preferida sea la más aceptada, o que la menos preferida sea equivalente a rechazable.

Como limitantes presenta, que para considerar los resultados como representativos de las respuestas de la población o del mercado, se requiere de un gran número de evaluaciones.

No señala el gradiente de diferencia entre las muestras. Los datos de un juego de muestras no son comparables con otros datos, ya que son propio de la intercomparación entre dicho juego de muestras.

### 1.2.7.2. PRUEBA DE NIVEL DE AGRADO.

Este es otro método afectivo empleado para localizar el nivel de agrado o desagrado que provoca una muestra específica. Se utiliza una escala no estructurada (también llamada escala hedónica), sin mayores descriptores que los extremos de la escala, en los cuales se puntualiza la característica de agrado. Esta escala debe contar con un indicador del punto medio, a fin de facilitar al juez consumidor la localización de un punto de referencia a la muestra.

Se presenta una o más muestras, según la naturaleza del estímulo, para que cada una se ubique por separado en la escala hedónica.

La población elegida para la evaluación debe corresponder a los consumidores potenciales o habituales del producto en estudio.

Estas personas no deben conocer la problemática del estudio, solamente entender el procedimiento de la prueba y responder a ella.

La escala hedónica se convierte en numérica transformando a centímetros la distancia entre los dos extremos del continuo y midiendo el punto de respuesta indicado por el consumidor.

Si se trata de analizar un solo producto, simplemente con obtener el valor medio y su desviación estándar podremos relacionarlo con el valor total de la escala.

Así se ejemplifica la opinión que de este producto tiene dicha población de consumidores; la desviación estándar nos señalará la discrepancia de los consumidores respecto de dicha opinión.

Cuando se trate de dos o más productos, las calificaciones de la escala hedónica se tabulan por juez-consumidor (filas) y por producto (columnas), totalizando la sumatoria de cada columna y cada fila para obtener un gran total. Para analizar (comparar) dos productos, se recomienda utilizar la prueba  $t$  de Student, y al tratarse de tres o más productos es necesario aplicar el análisis de varianza.

Esta prueba presenta la ventaja de ser sencilla de aplicar y no requiere

entrenamiento o experiencia por parte de los jueces-consumidores. También permite detectar el nivel de agrado que una muestra representa para una población en particular.

Se limita, ya que se requiere de un gran número de evaluaciones para considerar a los resultados como representativos de las tendencias de los gustos de una población o mercado. Las respuestas varían considerablemente. Las apreciaciones cambian con el tiempo, con la práctica, con la frecuencia o con las instrucciones.

### **1.2.7.3. PRUEBA TRIANGULAR.**

Es una prueba de diferenciación que determina si existe diferencia sensorialmente perceptible entre dos muestras, comparando tres muestras a la vez, de las cuales dos son iguales entre sí y la otra diferente.

La prueba triangular requiere que se presente a los jueces tres muestras codificadas en las siguientes combinaciones: AAB, ABA, ABB, BBA, BAB, BAA. Esta serie no necesariamente debe presentarse en una misma sesión; todo depende de la naturaleza del estímulo.

La misma letra indica letras iguales y la letra diferente la posición de la letra desigual. Dependiendo de la naturaleza del estímulo, estas combinaciones aleatorias se ofrecerán al juez en una o varias sesiones.

Esta prueba requiere que la variable motivo de observación sensorial sea la única causa de variabilidad. Por otra parte, de las muestras en estudio también se puede desconocer la variable sensorial, por lo que simplemente esta prueba permitirá detectar si existe o no diferencia entre las muestras, sin saber en qué atributo.

A los jueces se les habrá entrenado en el uso de la prueba y en los parámetros del estímulo.

La probabilidad de escoger la muestra correcta sólo por casualidad es de 33.3%. Debido a que se trata de una prueba donde el resultado es de decisión forzada y respuesta única, este comportamiento se ubica en la región de significancia de una sola cola en la distribución normal.

Las tablas de significancia para pruebas triangulares se han estructurado para facilitar la determinación del número de respuestas correctas necesarias para establecer diferencia significativa a los niveles de 5%, 1% y 0.1%.

Las ventajas que presenta es que es sencilla. No es necesario saber de antemano el parámetro de la diferencia entre las muestras, sino que simplemente el juez escogerá la que sea "diferente" de las otras dos.

Entre sus limitaciones presenta el requerimiento de una gran cantidad de producto y material. Los jueces pueden llegar a fatigarse muy fácilmente ya que se efectúan tres comparaciones pareadas: muestra 1 contra la 2, la 1 contra la 3 y la 2 contra la 3 (39).

### **1.3. AROMA Y SABOR**

#### **1.3.1. GENERALIDADES**

" El sabor es la sensación producida en la boca por un material, percibida principalmente por los sentidos del gusto y el olfato, así como por los receptores de dolor, tacto y temperatura. El sabor denota la suma de las características del material que produce tal sensación " (38).

El sabor tiene tres componentes básicos, el olfativo, el gustativo y el tacto, que se refieren, respectivamente, al olor, gusto y la sensación del estímulo del sabor (35).

El sentido del gusto siempre actúa después del olfato. Lo que habitualmente se llama sensación gustativa es una combinación de sabor y olor.

Entre los sabores se reconocen fundamentalmente cuatro: dulce, ácido, salado y amargo (36).

#### **1.3.2. MECANISMOS DE PRODUCCION DEL SABOR**

La formación de los compuestos responsable del sabor y del olor de los

alimentos, en general puede ocurrir a través de uno de los cuatro mecanismos que se muestran a continuación:

**CUADRO 4.  
MECANISMOS RESPONSABLES DEL SABOR  
Y OLOR EN LOS ALIMENTOS**

<b>CLASE</b>	<b>DESCRIPCION</b>	<b>EJEMPLO</b>
Biosintético	Los sabores se forman directamente a través de procesos biosintéticos.	Los sabores son terpenos y ésteres como en la menta, los cítricos, la pimienta y el plátano.
Acción enzimática directa	Los sabores se forman por acción de enzimas sobre moléculas precursoras del sabor.	Formación del sabor de la cebolla por acción de aliinasa sobre sulfóxidos.
Acción enzimática indirecta (oxidación)	Los sabores se forman al ser oxidados los precursores del sabor por agentes oxidantes generados enzimáticamente.	Los sabores se caracterizan por la presencia de grupos ácidos y carbonilos.
Pirolítico	Los sabores se forman de precursores al someter al alimento a tratamientos térmicos.	Los sabores se caracterizan por la presencia de pirazinas, derivados furánicos y otros.

**FUENTE: BADUI (1988).**

### 1.3.3. COMPONENTES DEL SABOR EN QUESOS NATURALES

Durante varios años el sabor de los productos lácteos ha tenido gran interés ya que, en cierto modo, el deterioro del sabor de la leche ha sido el responsable del desarrollo de nuevos productos lácteos con un sabor característico propio.

Inicialmente las investigaciones realizadas en los productos lácteos se avocaron al aislamiento e identificación de las sustancias responsables tanto de los sabores deseables como los indeseables.

Hoy en día se han desarrollado procedimientos sensoriales como una medida del sabor y fundamentalmente estudios sobre los componentes químicos responsables de los sabores en productos lácteos.

Los objetivos principales de la investigación del sabor en productos lácteos son la prevención de sabores indeseables y el control de los sabores deseables, como sería el hecho de acelerar la producción de sabor en la elaboración de queso (37).

Las reacciones químicas y enzimáticas que ocurren durante la maduración determinan las características de sabor, textura y apariencia del producto final. La lactosa, la grasa y la proteína de la leche, son sustratos que sirven para estas reacciones transformándose en una primera fase en ácido láctico, ácidos grasos y aminoácidos respectivamente, después hay reacciones secundarias que transforman estos compuestos en una gran variedad de sustancias que imparten sabor y olor a los quesos.

Los principales tipos de reacciones químicas causantes del sabor y el olor de los lácteos son las de hidrólisis, autooxidación, B-oxidación, decarboxilación, deshidratación y esterificación. La naturaleza química de los compuestos generados es muy variada, teniéndose entre los más representativos a los ácidos grasos, las cetonas, las lactonas, los aldehídos, los alcoholes, los hidrocarburos y los ésteres.

Los ácidos grasos de cadena corta, butírica principalmente, producen el sabor característico de la rancidez hidrolítica de los productos lácteos.

Las metilcetonas se forman a través de los hidroperóxidos provenientes

de las reacciones de autoxidación, o bien por un calentamiento de la grasa láctea en presencia de agua; ésta reacción se efectúa durante tratamientos térmicos, y se ha identificado a los derivados de los B-cetoésteres como los precursores de las metilcetonas (10).

Existen tres aromas fundamentales que pueden estar presentes en el queso y que dependen de la clase de leche utilizada para su elaboración, ya sea de vaca, cabra u oveja. Obviamente, el sentido del olfato se encargará de hacer ésta diferencia.

En los quesos se pueden distinguir seis aromas básicos: floral, frutal, resinoso, aromático, fétido y quemado; que junto con los aromas fundamentales dan el olor característico al queso con respecto a la variedad a que pertenece.

Cuando el queso comienza a desintegrarse en la boca, la superficie de la lengua va recogiendo los datos del sabor, que conjuntamente con el aroma, configuran el "gusto" de un buen queso (36).

Se conocen muchos cientos de variedades de quesos, sin embargo, sus aromas sólo han sido estudiados profundamente en un número muy limitado.

La mayoría de los quesos presentan en común una especie de aroma básico a queso que se debe a la sal, el ácido láctico, a los productos de degradación de las proteínas y, a menudo, a productos de degradación de los lípidos. El equilibrio entre estos compuestos varía mucho de unos tipos de queso a otros. Como contribuyente a tal aroma también debe tenerse en cuenta al dióxido de carbono (9).

La relación de dos sustancias es determinante y responsable del sabor, de tal forma que un desequilibrio de concentraciones de dichas sustancias produciría un cambio en las características organolépticas de los quesos (10).

Entre los productos de la degradación de la lactosa están los ácidos volátiles, como el acético, butírico, propiónico (principal constituyente del sabor del queso suizo), etc; las cetonas, por ejemplo el diacetilo; ésteres, etc. Estos compuestos son sápidos y odorantes. El ácido láctico da un sabor refrescante a los quesos frescos (3).

Los grados de lipólisis y proteólisis dependen del queso del que se trate, ya que por ejemplo, los quesos Camembert y Limburger presentan una proteólisis muy intensa, mientras que el Roquefort tiene una gran actividad lipolítica (10).

Los productos finales de la proteólisis son sápidos, por ejemplo: las peptonas (amargas) y los aminoácidos libres (que tienen diferentes sabores). El amoníaco ejerce un cierto efecto sobre el sabor, sobre todo en los quesos de corteza lavada.

Los productos de degradación de la materia grasa tienen gran influencia en el aroma, ej: ácido butírico, caproico, caprílico y cáprico (3). En el siguiente cuadro se muestra la lipólisis en el curso de la maduración.

**CUADRO 5.  
LIPOLISIS EN EL CURSO DE LA MADURACION**

QUESOS Y SUS CLASES	AC.GRASOS LIBRES (%)	INDICE DE YODO	
		AC.LIBRES	AC.TOTALES
Camembert (fresco)	0.25		
(madurado)	2.5	82.5	43.5
(muy madurado)	6.4		
Munster (madurado)	3.4	80.7	41.9
Roquefort (madurado)	3.0	60.1	46.7
Livarot (madurado)	2.7	63.5	42.0
Gruyère Comté (madurado)	0.76	45.4	40.2

FUENTE: BADUI (1988).

La producción de grupos disulfuro, provenientes de las proteínas de la leche, en la manufactura de los quesos es muy importante para el desarrollo de un olor y sabor balanceados.

Los S-S generados durante los tratamientos térmicos de la leche facilitan las reacciones bioquímicas de oxidorreducción que suceden en la maduración, ya que sirven como aceptores de los hidrógenos producidos en esta etapa.

La leche requiere de un calentamiento previo para transformar los grupos libres S-H de las proteínas en sus correspondientes S-S para obtener así el sabor y el aroma de los quesos. Todas estas reacciones las efectúan básicamente las enzimas nativas de la leche y los microorganismos típicos utilizados para la producción de cada clase de queso (10). Los compuestos relacionados con el sabor de algunos quesos se muestran a continuación:

**CUADRO 6.  
COMPUESTOS DEL SABOR EN QUESOS**

<b>QUESO</b>	<b>COMPUESTOS PREDOMINANTES DEL SABOR</b>	<b>SABOR BALANCEADO: RELACION DE COMPUESTOS</b>
Cheddar	Ac. grasos libres, H <sub>2</sub> S y ésteres.	Ac. grasos/H <sub>2</sub> S 14 : 0.01
Suizo	Ac. propiónico y acético.	Ac. propiónico/prolina 2 : 1
Romano	Ac. butírico y glutámico.	Ac. butírico/glutámico 3 : 1
Provolone	Ac. butírico y glutámico.	Ac. butírico/glutámico 1 : 1
Camembert	Amoniaco.	-
Limburger	Ac. grasos de cadena corta, H <sub>2</sub> S y metilmercaptanos.	-
Roquefort	Ac. grasos de cadena corta, metil y heptil cetonas.	-

FUENTE: BADUI (1988).

Como se puede observar, los ácidos grasos libres forman parte de los componentes del aroma del queso Cheddar.

El aroma de fondo se debe principalmente a péptidos, aminoácidos y a otros productos de la degradación proteínica, mientras que en la fracción volátil se encuentra hidrógeno sulfurado, metanotiol, dimetil sulfuro y diacetilo.

El metanotiol probablemente es imprescindible para el aroma a Cheddar. La presencia de ácido sulfhídrico es benéfica. Los ácidos volátiles no parecen contribuir al aroma pero pueden afectar al gusto del queso.

El buen aroma a Cheddar depende del equilibrio entre los ácidos grasos libres y los compuestos azufrados.

En el queso Roquefort, el aroma básico se debe especialmente a los ácidos grasos libres, a las metilcetonas y a los 2-alcanoles; se han identificado otros compuestos como alfa-cetoácidos, aldehidos, ésteres etílicos y aminas.

También se han detectado concentraciones bajas de 1-octen-3-ol. Los conocimientos actuales permiten formular un aroma sintético a queso Roquefort y producirlo por acción sumergida de **Penicillium Roqueforti** (9).

La química del sabor de los quesos es muy compleja. Se han identificado aproximadamente 180 compuestos en el sabor del queso Cheddar y 125 compuestos aproximadamente en el sabor de queso Suizo. Sin embargo, hay ciertos compuestos que pueden considerarse que contribuyen significativamente en el sabor característico de un determinado tipo de queso.

Muchos de los compuestos se producen durante la maduración y se encuentran en concentraciones y proporciones determinadas para cada variedad de quesos. Estas reacciones se pueden acelerar con el uso de enzimas. Los quesos modificados enzimáticamente podrían contener casi todos estos compuestos; sin embargo, sus concentraciones relativas podrían variar dependiendo de las condiciones de empleo y de la manufactura del producto.

Algunos de los compuestos importantes identificados en el sabor del queso Cheddar son ácidos grasos libres, metanotiol, dimetil sulfuro, diacetil, butanona, 2-pentanona, ácido láctico, ácido acético y productos de la hidrólisis

de las proteínas.

En general, los compuestos sulfurados de bajo peso molecular aumentan con la maduración del queso Cheddar, no obstante las concentraciones tienden a disminuir cuando la maduración es mayor a 12 meses. Esto nos podría sugerir que los compuestos sulfurados de bajo peso molecular sirven como sustrato para reacciones químicas no enzimáticas posteriores.

Las concentraciones de metanol, acetona y 2-pentanona aumentan con la maduración del queso y pueden considerarse indicadores importantes en el desarrollo del sabor (29).

#### **1.3.4. DESARROLLO DE SABOR EN ANALOGOS DE QUESO**

En general los agentes saborizantes tienen dos funciones: enmascarar notas indeseables del sabor de los ingredientes de la fórmula y dar al queso su sabor característico por el cual deben ser reconocidos (17).

El sabor en un análogo de queso se desarrolla básicamente con el empleo de saborizantes químicos ó a través de la fermentación del producto por medio de microorganismos con la consecuente liberación de enzimas que desarrollarán los productos del sabor.

Para desarrollo del sabor en productos de queso, se puede inocular la mezcla con sustancias productoras de sabor. Se encontraron que quesos comerciales como el cheddar, roquefort, parmesano y romano pueden utilizarse para suministrar microorganismos y enzimas.

La adición de diferentes cultivos y enzimas en combinación con los ingredientes de la mezcla y un determinado tiempo de incubación y fermentación, dá como resultado la obtención de un crecimiento óptimo para el desarrollo de sustancias productoras de sabor en un corto periodo de tiempo. La actividad microbiana y enzimática se detiene secando el producto (16).

Los componentes ácidos juegan un papel considerable para alcanzar un perfil ideal de sabores y también la estructura apropiada. El pH se puede

ajustar con el ácido adipico o láctico hasta aproximadamente 5.2-5.8 (17).

Actualmente los productores de alimentos son capaces de satisfacer la demanda de los productos imitación queso elaborados con un gran número de cualidades características, incluyendo los sabores. La disponibilidad de una cualidad de sabor natural a queso ahora han reducido las notas de un sabor áspero de las primeras imitaciones de queso.

Los sabores naturales son más costosos. Un sistema de sabor se puede realizar usando solamente saborizantes artificiales, una combinación de saborizantes naturales y artificiales ó solamente sabores artificiales. Los proveedores de sabores a queso pueden ofrecer hasta 70 diferentes sabores (14).

#### **1.4. ENZIMAS LIPOLITICAS EN EL DESARROLLO DE SABOR**

##### **1.4.1. GENERALIDADES**

Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas. Se encuentran entre las más notables de las biomoléculas debido a su extraordinaria especificidad y poder catalítico.

De acuerdo con la Comisión Internacional de Enzimas, se dividen en seis clases principales:

1. Oxido-reductasas. Reacciones de óxido-reducción.
2. Transferasas. Transferencia de grupos funcionales.
3. Hidrolasas. Reacciones de hidrólisis.
4. Liasas. Adición a dobles enlaces.
5. Isomerasas. Reacciones de isomerización.
6. Ligasas. Formación de enlaces con escisión de ATP (32).

##### **1.4.2. ACTIVIDAD ENZIMATICA EN LA PRODUCCION DE SABORES**

El uso de sistemas enzimáticos propios de microorganismos ha tenido gran impulso teniendo como causas principales la necesidad de economizar

el uso de energía, satisfacer la creciente necesidad de mejorar la nutrición de un mundo en constante aumento y encontrar alternativas naturales a productos químicos, tales como los usados en saborizantes.

El uso de enzimas en la producción de sabores, presenta como principal ventaja la capacidad que tienen de producir sabores únicos, que de otra manera serían obtenidos por medios más costosos. Contribuyen al desarrollo de sabor de productos lácteos, aceitunas, jarabe de maíz, salsas de soya, vino, etc.

La actividad enzimática, en contraste con las reacciones químicas regidas por la termodinámica, mediante las que se obtiene una gran variedad de ingredientes saborizantes, permite modificar sitios específicos de una molécula; ocurre en condiciones más suaves; con niveles muy bajos de enzima (0.1-1% del sustrato), y además debido a que las enzimas son biodegradables y no forman muchos subproductos, no es necesario eliminarlas o purificar el producto, por lo que los costos de tratamiento de desperdicios no son necesarios o son considerablemente menores que para la catálisis química (22).

La especificidad de las enzimas se debe a su actuación sobre un enlace químico determinado en una molécula; hecho que hace posible poder elegir una enzima para producir los productos que se deseen.

La enzima es un catalizador efectivo que provoca, bajo condiciones ambientales, una reacción a una velocidad razonable. Las plantas industriales que trabajan con reacciones enzimáticas pueden operar a un costo mucho menor y además ahorran energía (31).

Entre la gran variedad de reacciones catalizadas por enzimas se encuentran las que involucran la modificación enzimática de un sustrato adecuado, dando origen a productos "modificados enzimáticamente" intensamente saborizados.

Se usan lipasas, proteasas y carbohidrasas debido a que los compuestos de sabor son el resultado del catabolismo de ingredientes complejos de los alimentos, como son proteínas, lípidos y carbohidratos; por ejemplo los ácidos grasos libres y los productos de una proteólisis incompleta son característicos de los sabores lácteos.

Tradicionalmente éstos se han producido a través de la fermentación de la leche por varios microorganismos, no obstante es difícil de controlar, detener u obtener el énfasis de una nota sobre otra.

La adición de enzimas exógenas a quesos, grasa butírica o leche condensada, origina muchos ingredientes modificados enzimáticamente por un proceso natural que involucra los mismos procedimientos que el método tradicional.

Los productos de sabor intenso pueden usarse sólo o combinados con otros componentes, para obtener el sabor deseado.

Los sistemas enzimáticos usados se inactivan por el calor en el producto terminado.

La intensidad de sabor, por ejemplo, para el queso modificado enzimáticamente (QME), depende del tipo de queso usado y el proceso de modificación, pero en general se puede hablar de productos con 10-15, 20-25 y 25-30 veces el sabor del queso maduro.

El queso modificado se vende como una pasta o como un polvo secado por aspersión.

Las enzimas permiten una gran flexibilidad en la creación de sabores. Las pastas de QME pueden tener diferentes características dependiendo del sustrato de queso inicial, el tipo y cantidad de enzima, tiempo de incubación, etc (22).

#### **1.4.3. ACTIVIDAD DE ENZIMAS LIPOLITICAS EN LA PRODUCCION DE SABOR**

Las enzimas lipolíticas, tanto lipasas como esterasas, constituyen un importante grupo de enzimas asociadas con el metabolismo y degradación de las grasas (32).

Tradicionalmente la mayoría de las lipasas utilizadas en la manufactura de productos lácteos se derivan de fuentes tanto animales como vegetales. El ejemplo clásico es el uso, particularmente en Italia, de la lipasa contenida en

la pasta de renina, preparada a partir de los estómagos de becerros jóvenes, cabritos y borregos.

Recientemente se han realizado investigaciones del efecto de lipasas de origen microbiano en el desarrollo del sabor en productos lácteos, principalmente en el queso (30).

Las lipasas son fisiológicamente importantes ya que hidrolizan grasas y aceites para formar ácidos grasos y glicéridos, que son esenciales en los procesos metabólicos como la transportación de ácidos grasos, oxidación, síntesis de glicéridos y fosfolípidos.

Además éstas enzimas tienen un significado económico considerable en la industria de los alimentos.

Una verdadera lipasa actúa solamente en un sustrato heterogéneo, aunque también se ha establecido que las lipasas pueden hidrolizar formas en estado micelar.

La mayor diferencia entre las lipasas y las esterasas se encuentra asociada con el estado del sustrato en el que actúan. Las esterasas pueden hidrolizar sustratos solubles o dispersos, las lipasas no.

Se dice entonces que las lipasas son enzimas que hidrolizan los ésteres en una interfase agua-aceite, en un sistema insoluble o heterogéneo.

La lipasa actúa en el sustrato desarrollando ácidos grasos libres, la actividad de la enzima se puede medir por la determinación, directa o indirecta, de la desaparición del sustrato o la formación de los productos finales como los ácidos grasos libres.

Existen varios métodos que se emplean en la determinación cuantitativa de la actividad lipolítica. Entre estos encontramos los siguientes:

- Método potenciométrico:  
Consiste en la formación de una mezcla de un sustrato glicérido en emulsión, con la enzima y la incubación de la mezcla a una temperatura y pH óptimos. Durante la incubación, se forman los ácidos grasos libres, disminuyendo el pH del sistema.

Una titulación automática ó manual del sistema proporciona el valor del título por unidad de tiempo, dando una medida directa de la actividad de la lipasa.

La goma arábica es el emulsificante usado más comunmente, también se utiliza el deoxicolato de sodio, oleato de sodio, hidroximetilcelulosa ó alcohol polivinílico.

- Método silica gel:  
Consiste en la incubación de una mezcla de sustrato-enzima, extracción de los ácidos grasos libres en una columna de silica gel, y titulación con alcali.
- Método de reducción de la tensión superficial:  
En éste método se mide la reducción de la tensión superficial por la formación de los ácidos grasos libres durante la lipólisis.
- Técnica manométrica de Warburg:  
Los ácidos grasos liberados en condiciones estándar se hacen reaccionar con  $\text{NaHCO}_3$ , y el  $\text{CO}_2$  producido se mide.
- Método turbidimétrico:  
En éste método, la clarificación de la emulsión es función de la acción de la lipasa.
- Método fotométrico:  
Este método implica el uso de sustratos cromogénicos, como el p-nitrofenil acetato en solución, que desarrolla compuestos coloreados durante la lipólisis, medidos colorimétricamente.

Las últimas cuatro técnicas no son muy usadas, y en particular en la última se tiene la desventaja de requerir un sustrato soluble.

Factores que afectan la velocidad y cinética de la lipasa:

- 1.- Efecto del pH y la temperatura:  
En general, la mayoría de las enzimas son muy activas en un limitado rango de pH y temperatura, también las lipasas.

Además, el pH óptimo y la temperatura varían dependiendo del sustrato utilizado, estado de pureza de la lipasa, buffers usados y el método de ensayo. Si bien la mayoría de las lipasas presentan su pH óptimo alcalino, pH de 8 a 9, se ha reportado la existencia de lipasas que actúan a pH ácido.

Existe una gran diversidad de lipasas microbianas que tienen un rango de pH óptimo entre 5.6 a 8.5.

En general las lipasas son activas en un amplio rango de temperatura, la temperatura óptima en la mayoría se encuentra entre los 30 y 40°C. Por otro lado, ciertas lipasas han demostrado que pueden actuar en alimentos congelados a temperatura de -29°C.

#### 2.- Efecto de varias sales:

Se han realizado varios estudios concernientes al efecto de las sales sobre la actividad de la enzima. Se ha demostrado que los metales pesados inhiben la actividad de la lipasa, el efecto del calcio, el cloruro de sodio y las sales biliares, así como su modo de acción son diferentes.

El calcio estimula la actividad de la mayoría de las lipasas. Una de las teorías sugiere que los iones de calcio cambian los ácidos grasos libres, producidos durante la lipólisis, a compuestos insolubles de calcio, permitiendo que la lipólisis continúe.

En un sistema libre de calcio, en presencia de sales biliares, la lipasa no puede ser adsorbida en la interfase agua-aceite y en consecuencia no ocurre la actividad lipolítica. Posiblemente, los iones calcio compensan la repulsión electrostática creada entre la enzima y los grupos carboxilo de las sales biliares.

#### 3.- Estado físico del sustrato:

Las grasas y aceites animales y vegetales son comúnmente empleados como sustratos. Es necesario que el sustrato se encuentre en emulsión para que la lipólisis ocurra. La actividad lipolítica ocurre únicamente cuando la lipasa es adsorbida en la interfase agua-aceite.

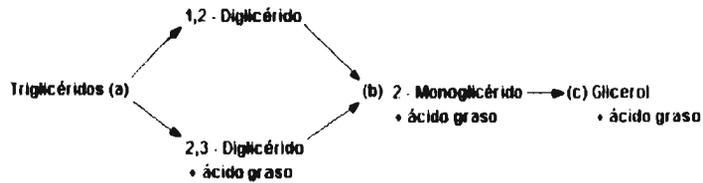
La mayoría de las lipasas estudiadas son bastante inespecíficas en el aspecto de que no sólo hidrolizan aceites y grasas naturales, sino también numerosos mono-, di-, y triglicéridos sintéticos ya sea simples o mezclados.

En un triglicérido, los ácidos grasos no son liberados al mismo tiempo durante la lipólisis, surgiendo la pregunta de si existe una posición en particular en que sea hidrolizado preferentemente para formar un determinado ácido graso.

Este tipo de especificidad es llamada "especificidad posicional". Las posiciones 1 y 3 (alfa y alfa') corresponden a grupos de alcoholes primarios, y la posición 2- (B-) corresponde a grupos de alcoholes secundarios. La lipasa pancreática, por ejemplo, hidroliza preferentemente posiciones primarias.

Estudios recientes han demostrado que los diglicéridos formados en la lipólisis de un triglicérido consisten en 1,2- ó 2,3-isómeros y los monoglicéridos fueron 2-monoglicéridos.

Estas observaciones sugieren la siguiente secuencia de lipólisis:



La reacción (a) es muy rápida, la reacción (b) es lenta, y la reacción (c) es muy lenta. En varias reacciones de lipólisis en triglicéridos, sin embargo, se ha encontrado que los monoglicéridos formados no son exclusivamente 2-isómeros, aproximadamente el 10% son también 1-isómeros.

Con las diferentes lipasas existen excepciones en relación a su especificidad en la formación de los ácidos grasos.

#### 1.4.3.1. LIPASAS MICROBIANAS.

En los últimos años se ha puesto especial atención en las lipasas producidas por microorganismos, posiblemente por su estabilidad y sus aplicaciones prácticas médicas e industriales.

En la industria de los alimentos tienen una gran importancia. Las lipasas de microorganismos contaminantes pueden causar una rancidez que provoque un sabor indeseable, muchas de estas lipasas juegan un papel muy importante.

Existe una gran variedad de microorganismos que producen lipasas. Entre éstos se encuentran levaduras del género **Candida** y **Torulopsis**; así como hongos de los géneros **Rhizopus**, **Penicillum**, **Aspergillus** y **Mucor**; y bacterias **Pseudomonas**, **Achromobacter** y **Staphylococcus**.

Las lipasas, en su mayoría, son de naturaleza exocelular y son inducidas, en algunos casos, por la inclusión de un sustrato de lípidos en el medio de cultivo.

Varios microorganismos producen también lipasas intracelulares.

Las lipasas pueden ser aisladas y purificadas por el empleo de técnicas comunes de precipitación fraccional y cromatografía, seguida de liofilización.

La diversidad en el pH óptimo, temperatura óptima y calor de inactivación de las diversas lipasas microbianas se presentan en el siguiente cuadro:

**CUADRO 7.**

ORIGEN DE LA LIPASA	pH OPTIMO	TEMPERATURA OPTIMA (°C)	CALOR INACTIVACION (min)-T(°C)
<u>Penicillium crysogenum</u>	6.2 - 6.8	37	
<u>Pse. fragi</u>	7.0 - 7.2	32	15 72
<u>R. delemar</u>	5.6	35	15:50
<u>A. niger</u>	5.6	25	15:45
<u>Penicillium roqueforti</u>	8.0	37	10:50
<u>Sta. aureus</u>	8.5	45	30:70
<u>G. candidum</u>	8.2	37	15:60
<u>Acromobacter lipolyticum</u>	7.0	37	40:99

**FUENTE: SHAHANI (1974).**

En general, las lipasas microbianas han demostrado ser más estables que varias lipasas de origen animal.

Las lipasas microbianas son lipasas verdaderas ya que no hidrolizan ésteres como el butirato de metilo y el acetato de etilo.

Estas hidrolizan numerosos aceites naturales así como también glicéridos sintéticos.

Bajas concentraciones de calcio, sodio, potasio y magnesio pueden activar la lipólisis y las sales de metales pesados inhiben la lipólisis en la mayoría de las lipasas microbianas.

El modo de acción de las lipasas microbianas difiere considerablemente con el tipo de organismo que produce la enzima.

La mayoría de las lipasas microbianas atacan las cadenas primarias de los triglicéridos y por lo tanto presentan la misma especificidad posicional que la lipasa pancreática ó la lipasa de leche (32).

La lipólisis se define como una hidrólisis catalizada por enzimas, donde a partir de triglicéridos se obtienen ácidos grasos libres (26).

El método tradicional para la obtención de ácidos grasos es a temperaturas altas y presión de vapor elevada.

Empleando enzimas lipolíticas la reacción se lleva a cabo a presión ambiental y a temperaturas de 40-60°C, por lo que el costo de energía disminuye.

Los ácidos grasos obtenidos por vía enzimática son mucho menos corrosivos que los obtenidos por el proceso tradicional (31).

Es importante la presencia de los ácidos grasos libres para el desarrollo del sabor en diversos productos.

Las enzimas lipolíticas presentan diferente especificidad que afecta el desarrollo del sabor (26).

La especificidad de las lipasas animales y microbianas en los quesos es la responsable del aumento de los ácidos grasos para el desarrollo del sabor agradable y característico de los quesos (31).

La especificidad difiere en el tamaño de la cadena del ácido graso, tipo de molécula de glicérido y condiciones físicas del sustrato.

Las enzimas lipolíticas específicas para cadenas cortas de ácidos grasos, por ejemplo, desarrollan un sabor fuerte característico, que modifica los productos de grasa de leche.

En el cuadro 8 se presentan en diferentes productos lácteos la cantidad de ácidos grasos libres.

**CUADRO 8.**

**ACIDOS GRASOS LIBRES EN DIVERSOS PRODUCTOS**

<b>PRODUCTO</b>	<b>ACIDOS GRASOS LIBRES (mg/Kg)</b>
Leche fresca	415
Crema	1027
Mantequilla	2733
Queso Cheddar	1793
Queso Azul	23500 a 66700

**FUENTE: ARNOLD, SHAHANI, DWVEDI (1974).**

Se debe considerar tanto el estado físico del sustrato y la especificidad de la enzima lipolítica en el diseño de los sistemas para la aplicación de enzimas lipolíticas en el desarrollo del sabor de productos lácteos.

Se han realizado minuciosos estudios sobre la especificidad de varias enzimas lipolíticas en los sustratos para la formación de los diversos ácidos grasos.

Estas enzimas promueven la formación de ácidos grasos en aproximadamente la misma proporción en que se encuentran presentes en la grasa.

Por el contrario, otras enzimas lipolíticas demuestran preferencia por determinados ácidos grasos.

Las propiedades características de varias enzimas lipolíticas y el reconocimiento del potencial del sabor de la grasa de leche resultan de una composición característica de ácidos grasos de cadena corta.

Los principales pasos en la manufactura de productos lipolizados son los siguientes:

- 1.- Preparación del sustrato (leche condensada o grasa butírica).
- 2.- Preparación de un sistema estándar de enzima en agua.
- 3.- Combinación del sustrato de grasa de leche y la enzima.
- 4.- Homogenización hasta formar una emulsión estable, para promover la máxima actividad de la enzima.
- 5.- Incubar el sustrato emulsionado a temperatura controlada con una cantidad específica para que ocurra la lipólisis.
- 6.- Pasteurizar para la completa inactivación de la enzima.
- 7.- Estandarización final y empaque (26).

La lipólisis es una reacción importante en el desarrollo del sabor en el queso.

Los ácidos grasos libres producidos durante la lipólisis son los mayores contribuyentes del sabor característico de los quesos.

Se ha encontrado que la composición de los ácidos grasos se podría relacionar con la calidad del sabor y la intensidad, pero no se relaciona con la maduración del queso.

La lipólisis probablemente se inicia por lipasas de la leche o por lipasas provenientes de una bacteria. Las lipasas iniciadoras no hidrolizan los triglicéridos. Las lipasas iniciadoras pueden atacar los monoglicéridos y diglicéridos producidos por las lipasas microbianas o lipasas de la leche y probablemente contribuyen a la formación del sabor característico del queso Cheddar (29).

En los quesos madurados, la presencia de los ácidos butírico, caproico, caprílico y cáprico libres, se atribuyó a la acción de las lipasas bacterianas intracelulares en la grasa de queso (26).

La actividad de las lipasas microbianas es la causa predominante de una lipólisis excesiva en el queso (23).

En el queso cheddar, el sabor se debe a ácidos grasos libres y acetatos (26). Los porcentajes de los diferentes ácidos grasos que se han encontrado

en el queso Cheddar y Mozzarella se presentan en el Cuadro 9.

**CUADRO 9.  
COMPOSICION DE AC.GRASOS LIBRES  
EN QUESO TIPO MOZZARELLA Y CHEDDAR.**

<b>ACIDO GRASO</b>	<b>MOZZARELLA 21.6% GRASA g/100g</b>	<b>CHEDDAR 33.1% GRASA g/100g</b>
<b>SATURADO, TOTAL</b>	13.68	20.14
4:0	1.43	1.05
6:0	0.46	0.53
8:0	0.27	0.28
10:0	0.60	0.60
12:0	0.68	0.54
14:0	2.19	3.33
16:0	5.80	9.80
18:0	2.25	4.01
<b>MONOINSATURADOS, TOTAL</b>	5.43	8.90
16:1	0.54	1.00
18:1	4.25	7.00
18:1 <sup>d</sup>	0.65	0.90
<b>POLIINSATURADOS, TOTAL</b>	0.72	0.94
18:2	0.52	0.58
18:3 <sup>e</sup>	0.21	0.36

**FUENTE: KUANG (1992).**

Se ha informado que la adición de lipasas a la leche durante la elaboración del queso Cheddar acelera el desarrollo del sabor.

Estos estudios indican que los perfiles de ácidos grasos libres y las cantidades de ácidos grasos libres de cadenas cortas (C4 - C8) son importantes para el desarrollo del sabor característico del queso Cheddar en la maduración acelerada del queso (28).

Cantidades excesivas de ácidos grasos libres son asociadas con los defectos de sabor debidos a la rancidez hidrolítica, en el queso Cheddar (23).

Evidencias recientes demuestran que el sabor del queso Cheddar es resultado directo de reacciones no enzimáticas que se llevan a cabo en el cuerpo del queso.

Es lógico que la liberación de enzimas iniciadoras proporcionan el ambiente y las condiciones favorables para que se lleven a cabo las reacciones no enzimáticas.

Se requiere de la reducción del potencial redox para que se desarrolle el sabor en el queso Cheddar.

Se piensa que las enzimas iniciadoras crean éste ambiente a través de una serie de pasos metabólicos, que reducen el oxígeno en el cuerpo del queso y posteriormente la producción de compuestos sulfurados.

Las enzimas se adicionan durante la manufactura del queso o después de ella. Se requiere de un periodo de incubación a condiciones controladas para favorecer el desarrollo del sabor.

El mecanismo que se lleva a cabo para el desarrollo del sabor en los quesos modificados enzimáticamente podría relacionarse con el curado del queso.

En algunos casos, la intensidad del sabor es proporcional al grado de lipólisis y liberación de ácidos grasos libres de bajo peso molecular, en los quesos Romano y Provolone por ejemplo.

En otros casos, un perfil similar de ácidos grasos libres mejora el sabor tanto del queso Cheddar como del queso Suizo, pero no es característico en ambos (29).

En el queso azul, los ácidos grasos libres son precursores de los compuestos del sabor, como metil cetonas y alcoholes, compuestos esenciales en el sabor del queso azul (26).

Los quesos que han sido modificados enzimáticamente para mejorar el sabor ó una porción significativa del perfil del sabor, podrían llamarse "quesos modificados enzimáticamente".

La enzima puede añadirse durante la manufactura del queso o después de la cuajada, se prensa y posteriormente viene el periodo de maduración.

Los quesos modificados enzimáticamente logran una textura similar o modificada ligeramente, dependiendo de la variedad del queso, puede adoptar hasta una forma pastosa.

Una fuerte intensidad de sabor, en un queso modificado enzimáticamente, sólo puede lograrse con el tiempo, con una adición cuidadosa de enzimas a la cuajada ó por la adición al queso fundido seguida por un proceso de incubación controlado.

Para el desarrollo del sabor en los quesos, vía enzimática, se requiere de una bacteria iniciadora. Durante la maduración, la bacteria iniciadora muere y después se lisa, liberando sus enzimas en la cuajada.

En la siguiente figura se describe el mecanismo general de desarrollo de sabor.



Muchos estudios han indicado que la lipólisis contribuye significativamente en la percepción del sabor de los quesos modificados enzimáticamente.

El grado de lipólisis está determinado por la intensidad del sabor deseado y la aplicación del producto.

Los ácidos grasos libres o los monoglicéridos y diglicéridos contribuyen en la emulsificación de muchos componentes del sabor, así mismo los ácidos grasos sirven como sustrato de reacciones posteriores.

Después de una hidrólisis limitada, el resultado observado en la fase de grasa es un aumento en su capacidad de disolver los compuestos del sabor, provocando que aumente la percepción del mismo (29).

#### **1.4.4. ACTIVIDAD DE ENZIMAS PROTEOLITICAS EN LA PRODUCCION DE SABOR**

De la misma forma, la proteólisis es un proceso importante en el desarrollo del sabor en el queso. Las proteasas son secretadas por las células que se encuentran en el medio, en la pared celular y en el espacio entre la pared celular y la membrana celular.

Las peptidasas también se encuentran presentes en la membrana celular en el área de la pared y en el citoplasma de la bacteria iniciadora. Estas enzimas, junto con la renina y las proteasas de la leche producen una hidrólisis parcial de la caseína, dando como resultado modificaciones típicas de un queso madurado en el sabor y la textura (29).

## **CAPITULO 2**

## **OBJETIVOS**

- **Elaborar un análogo de queso que cumpla con la comparación del queso tipo Chihuahua establecida en la Norma Oficial correspondiente.**
- **Desarrollar el sabor de un análogo de queso a partir de la modificación enzimática de la grasa y la adición de saborizantes artificiales, con el fin de obtener un producto sensorialmente aceptable.**

## **CAPITULO 3**

## **MATERIALES Y METODOS**

El desarrollo de este trabajo comprendió las siguientes fases experimentales:

Desarrollo de la formulación que proporcionara al análogo de queso la composición fisicoquímica del queso tipo Chihuahua.

Sustitución parcial de grasa butírica por grasa vegetal.

Determinación de la concentración y tiempo de acción sobre la grasa butírica de la enzima lipolítica.

Elaboración de análogos de queso, aplicando diferentes grados de lipólisis.

Elaboración de análogos de queso, con distintos saborizantes artificiales.

Evaluación sensorial de los análogos de queso de los dos tratamientos: lipólisis y adición de saborizantes artificiales.

Combinación de los métodos de producción de sabor: por vía enzimática y empleo de saborizantes artificiales, tomando como referencia los análogos que obtuvieron las mejores calificaciones en las evaluaciones antes mencionadas.

### **3.1. DESARROLLO DE LA FORMULACION Y SUSTITUCION DE GRASA BUTIRICA POR GRASA VEGETAL**

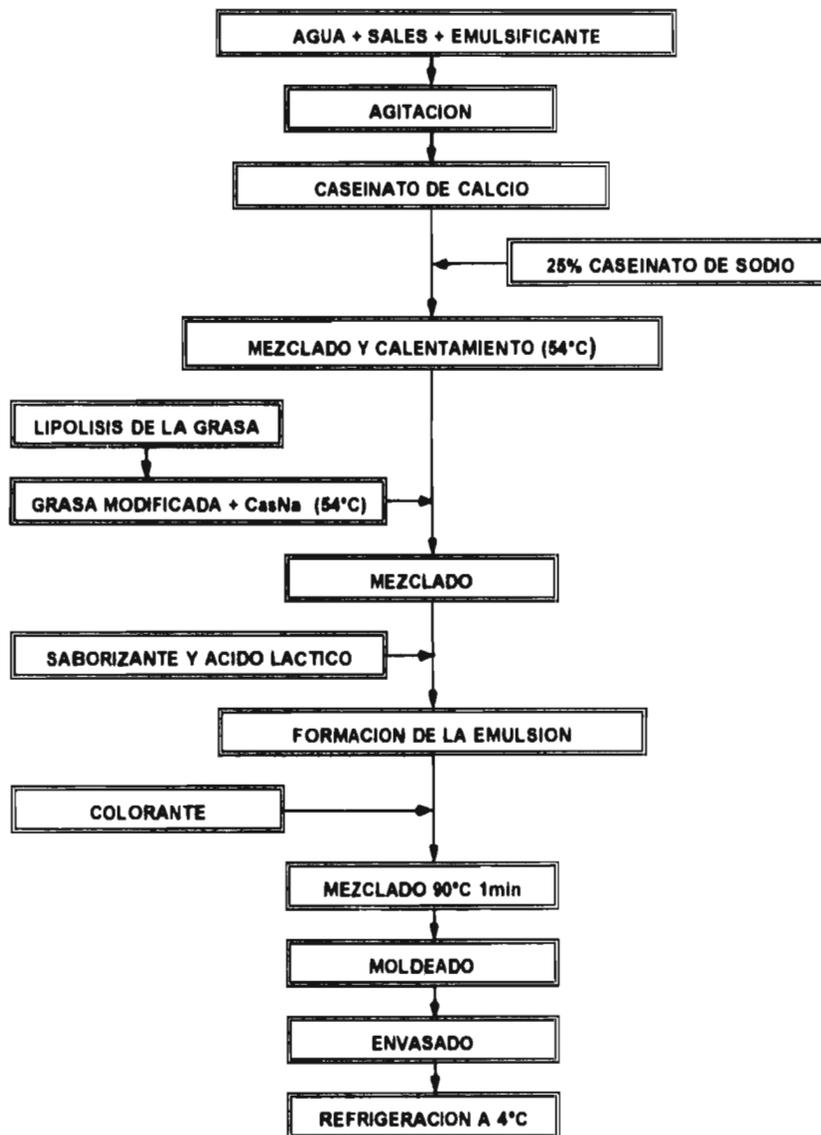
Se partió de una formulación tipo de un análogo de queso (Cuadro 10), a la que se modificó el porcentaje de grasa butírica, grasa vegetal y agua, con la finalidad de obtener un análogo de queso tipo Chihuahua que cumpliera con la composición fisicoquímica de su contraparte natural pero que presentara una disminución significativa de su contenido en colesterol.

**CUADRO 10.  
FORMULACION TIPO DE ANALOGO DE QUESO**

<b>INGREDIENTE</b>	<b>FORMULACION TIPO</b>
Grasa butírica	4.67%
Grasa vegetal hidrogenada de soya	14.03%
Caseinato de sodio	20.35%
Caseinato de calcio	5.09%
Acido láctico	0.73%
Cloruro de calcio	0.84%
Sorbato de potasio	0.14%
Cloruro de sodio	0.77%
Sabor	0.16%
Citrato de sodio	0.52%
Agua	52.74%

Para la realización de esta fase se efectuaron balances de materia, de tal manera que se pudieran obtener las concentraciones de grasa y agua a utilizar en la formulación. Además se estableció una relación de grasa butírica-grasa vegetal de 25%-75% respectivamente.

El proceso de elaboración del análogo se muestra en el diagrama de flujo de la siguiente página.



PROCESO GENERAL DE LA ELABORACION DE LOS ANALOGOS DE QUESO

Las operaciones del diagrama anterior son las siguientes:

- Solubilización de las sales: sorbato de potasio, cloruro de calcio, cloruro de sodio y del citrato de sodio (agente emulsificante) a temperatura ambiente y con agitación constante. Las sales se agregaron en este orden para facilitar su disolución.
- Adición del 25% del caseinato de sodio y el total de caseinato de calcio a la disolución anterior.
- Mezclado a velocidad media constante durante 2.5 minutos, para esta operación se utilizó una mezcladora Hoobart.
- Una vez homogeneizada la mezcla, se calentó gradualmente, en baño maría, hasta una temperatura de aproximadamente 54°C. En esta fase se formó una masa homogénea espumosa.
- Adición de una mezcla de caseinato de sodio-grasa a 54°C. Es importante que las dos mezclas se encuentren a la misma temperatura para evitar un choque térmico que provoque el rompimiento de la emulsión.
- Calentamiento y mezclado a velocidad constante hasta la formación de la matriz del queso.
- Adición del sabor artificial, el colorante (achiote) y el ácido láctico, este último debe ser medido lo más exactamente posible para evitar cambios en el pH que modificarían las características finales del producto.
- Una vez alcanzada una temperatura de 88-89°C, se mezcló por un minuto más y se vació la pasta inmediatamente en moldes.
- Prensado durante 24 horas.
- Envasado y refrigeración a 4°C (Vélez, 1992).

Con objeto de corroborar que la composición del análogo fuera acorde a los parámetros señalados en la Norma Oficial Mexicana para el queso Chihuahua, tomado como referencia, se le practicaron las determinaciones fisicoquímicas siguientes: pH por el método potenciométrico, humedad, cenizas y grasa por el método de Werner-Schmid (34).

### **3.2. DETERMINACION DE LA CONCENTRACION Y TIEMPO DE ACCION DE LA ENZIMA LIPOLITICA SOBRE LA GRASA BUTIRICA**

Para la producción de sabor por vía enzimática se utilizó la lipasa RH (Enmex). Enzima aislada del hongo Rhizopus delemar. Esta enzima tiene la capacidad de hidrolizar los triglicéridos a glicéridos y ácidos grasos.

Es de grado alimenticio y se encuentra libre de olor y sabor desagradables. Su rango óptimo de pH se encuentra entre 3.6 y 7.5. Su actividad es efectiva en un intervalo de 25 a 50°C.

Las concentraciones utilizadas fueron: la recomendada por el fabricante, que fue de 0.0072% y 0.3%.

Para integrar la enzima a la grasa, se requirió de su disolución previa en 10ml de una solución al 0.2% de caseinato de sodio, mediante agitación a 45°C, aprovechando las propiedades emulsificantes de los caseinatos.

La cinética de su reacción lipolítica se siguió durante 100 minutos a una temperatura de 45°C y pH de 5.17.

La enzima se inactivó calentando la grasa a una temperatura superior a 60°C, puesto que en la literatura se informa que esta enzima se inactiva rápidamente a temperaturas mayores de 50°C.

Con objeto de estudiar la cinética de hidrólisis de la enzima, se permitió su acción sobre la grasa por diferentes periodos de tiempo, hasta 100 minutos.

Este procedimiento también permitió la determinación del tiempo necesario para obtener en la grasa una acidez titulable, generada por una cantidad de ácidos grasos libres, semejante a la que se encuentra en el queso Cheddar (1.793%) (26).

El grado de lipólisis se midió a través de la variación de acidez provocada por la liberación de ácidos grasos.

### **3.3. ELABORACION DE ANALOGOS DE QUESO APLICANDO DIFERENTES GRADOS DE LIPOLISIS**

La concentración de enzima a utilizar para la lipólisis de la grasa butírica,

se eligió de acuerdo a su efectividad en la liberación de ácidos grasos.

Los tiempos de acción de dicha enzima elegidos fueron los que permitieron una concentración de ácidos grasos libres similar a la del queso Cheddar y dos más prolongados con el fin de determinar si cantidades mayores de estos compuestos tienen mayor efecto favorable en el sabor del queso.

La actividad de la enzima, en todos los tratamientos, fue detenida mediante calentamiento a 60°C.

Las grasas modificadas, con diferente grado de lipólisis, fueron integradas en la elaboración de sendos análogos, de acuerdo al proceso descrito en el punto 3.1.

#### **3.4. ELABORACION DE ANALOGOS DE QUESO CON DISTINTOS SABORIZANTES ARTIFICIALES**

Se evaluaron un sabor a queso Chihuahua de Firmenich y un sabor de queso Chihuahua madurado clave 2421086 de Robertet. Los sabores fueron adicionados directamente a la mezcla de ingredientes de la formulación, al alcanzar 70°C, prácticamente al finalizar el proceso. Las dosis probadas fueron las sugeridas por el fabricante, 2 y 5 ml en ambos casos.

#### **3.6. EVALUACION SENSORIAL**

Los análogos de queso elaborados (puntos 3.3 y 3.4) fueron evaluados sensorialmente por medio de un método afectivo, utilizándose una prueba de preferencia. Esta se dividió en dos grupos: uno correspondiente a los análogos donde el sabor se generó a través de la modificación de la grasa vía enzimática y el de los análogos a los que se adicionaron los sabores artificiales.

La evaluación fue realizada por 30 jueces no entrenados. Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA.

Se realizó una prueba triangular entre los quesos modificados por vía enzimática durante 30 y 80 minutos para determinar si los jueces eran capaces de identificar diferencias en el sabor debidas al grado de lipólisis.

### **3.6. ELABORACION DE ANALOGOS DE QUESO COMBINANDO LOS METODOS DE PRODUCCION DE SABOR**

Se elaboró un tercer grupo de análogos de queso donde se combinaron los métodos de producción de sabor, tomando los tratamientos que produjeron las calificaciones mejores de la evaluación anterior. Se sometieron también a una prueba de preferencia con 30 jueces no entrenados.

## CAPITULO 4

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1. FORMULACION DESARROLLADA Y ANALISIS FISICOQUIMICO

Durante la elaboración del análogo de queso se aumentó el contenido de grasa, tanto butírica, como vegetal, para lograr una composición similar a la del queso tipo Chihuahua.

En esta fase del proceso se logró incorporar la grasa a la composición original sin afectar la emulsificación de la misma; la adición de grasas insaturadas se vio favorecida ya que éstas presentan hidrógenos disponibles para la formación de puentes electrostáticos que contribuyen en la estabilización de la matriz que integra el gel<sup>1</sup>.

Ambos tipos de grasa presentan un bajo punto de fusión, propiedad indispensable para la obtención de un queso con características sensoriales adecuadas en textura y apariencia.

El análogo elaborado presentó un color y consistencia características de un queso tipo Chihuahua así como buenas propiedades fundentes, en donde no se observó la separación de la grasa.

La variación en el contenido de grasa y agua de la formulación tipo, condujo a la composición que se describe en el cuadro 11:

---

<sup>1</sup>VELEZ ORTEGA GISELA. "Desarrollo de un análogo de queso a partir de caseinatos" Tesis Universidad Veracruzana. página 23. México, 1992

**CUADRO 11.  
FORMULACION DESARROLLADA**

INGREDIENTE	PORCENTAJE
Grasa butírica	5.98%
Grasa vegetal hidrogenada de soya	17.95%
Caseinato de sodio	20.35%
Caseinato de calcio	5.09%
Acido Láctico	0.73%
Cloruro de calcio	0.84%
Sorbato de potasio	0.14%
Cloruro de sodio	0.77%
Citrato de sodio	0.52%
Agua	47.62%

El caseinato de sodio utilizado en la formulación contribuyó a la formación de una emulsión estable, debido a su capacidad emulsificante. La caseína y sus sales, basada en sus características estructurales, presentan una región terminal que contiene grupos de fosfato de calcio y/o sodio y esencialmente toda la carga eléctrica de la proteína; el otro extremo es de naturaleza orgánica y no polar.

El extremo rico en fosfato es soluble en agua, mientras que el extremo orgánico es liposoluble, fenómeno que proporciona a la proteína sus propiedades emulsificantes<sup>2</sup>.

Cabe mencionar además la contribución del citrato de sodio en la formación de la emulsión a través de la remoción del calcio remanente en los fragmentos de proteína, intercambiándolo por sodio, aumentando así su capacidad emulsificante.

---

<sup>2</sup>LAWRENCE A. SHIMP. "Process Cheese Principles". Food Technology. May, 1985.

En el cuadro 12 se muestran los resultados del análisis fisicoquímico de los análogos de queso, pudiendo observar que su composición estuvo acorde con los parámetros especificados en la Norma Oficial para queso tipo Chihuahua.

**CUADRO 12.  
ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DEL ANALOGO**

<b>DETERMINACION</b>	<b>RESULTADO</b>
pH	5.17
Cenizas (%)	3.01
Grasa (%)	26.00
Humedad (%)	41.90

Un factor importante en la formación de la emulsión es el pH, su variación altera la configuración de la proteína y su solubilidad. Cuando el pH de una solución circundante se aproxima al punto isoelectrico, las cargas positivas y negativas en la proteína se van equilibrando gradualmente, bajo la influencia de los iones en solución.

El punto isoelectrico es el pH al cual las cargas eléctricas de la proteína en cuestión se encuentran perfectamente balanceadas; en este estado las moléculas de proteína se enrollan disminuyendo su solubilidad y su interacción con otras proteínas.

El punto isoelectrico de las proteínas del queso se presenta aproximadamente a un pH de 5.0. A valores de pH más elevados, las uniones entre las cadenas de proteína y su solubilidad mejoran, formando un queso más elástico y mejor emulsificado<sup>3</sup>. En el análogo elaborado se formó satisfactoriamente la emulsión a un pH de 5.17.

<sup>3</sup>LAWRENCE A SHIMP "Process Cheese Principles". Food Technology May, 1985

## 4.2. ACCION LIPOLITICA DE LA ENZIMA

Al considerar que los ácidos grasos libres son compuestos muy importantes en el desarrollo de sabor de los quesos, se promovió su formación en el análogo a través de hidrólisis enzimática de la grasa. Cabe señalar además que la grasa butírica como tal contribuye al sabor de los derivados lácteos, esta fue una de las razones por las que no se redujo el contenido de grasa butírica en un porcentaje menor al 25% con respecto a la grasa total.

La utilización de enzimas lipolíticas para la producción de ácidos grasos libres, ofrece ventajas, tales como su alto grado de especificidad y fácil manejo.

El método óptimo que se encontró para la manufactura del análogo lipolizado consistió de las siguientes operaciones<sup>4</sup>:

- 1.- Preparación previa del sustrato, factor importante, puesto que el estado físico de la grasa afecta la velocidad y cinética de la lipasa. Fue necesario que el sustrato se encontrara emulsionado para que la lipólisis ocurriera, debido a que la actividad lipolítica ocurre únicamente cuando la lipasa es adsorbida en la interfase agua-aceite<sup>5</sup>. Para formar la emulsión en la mezcla de grasa y enzima, se utilizó una solución de caseinato de sodio al 0.2%, compuesto que, como se mencionó, es un buen agente emulsificante.
- 2.- Preparación de un sistema estándar de enzima en agua, en este caso se disolvió la enzima en 5ml de agua antes de adicionarse al sustrato.
- 3.- Combinación del sustrato de grasa y la enzima.
- 4.- Homogenización hasta formar una emulsión estable, para promover la máxima actividad de la enzima.
- 5.- Incubación del sustrato emulsionado a temperatura controlada de 45°C para favorecer la lipólisis. Se ha informado que a esta temperatura, la actividad de la enzima es máxima.

---

<sup>4</sup>ARNOLD R G, SHAHANI K M Y DWVEDI K "Application of Lipolytic Enzymes to Flavor Development in Dairy Products" Journal of Dairy Science. 58 8 p.p 1127-1143

<sup>5</sup> SHAHANI KHEM M "Lipases and esterases". Enzymes in food processing. G Reed, ed. Academic Press. p.p 182-215 New York, 1974

6.- Pasteurización, para la completa inactivación de la enzima (60°C).

La aplicación adecuada de enzima y tiempo de acción apropiado para cada caso en particular se logró a través del conocimiento de su concentración.

En esta investigación, al determinar la actividad lipolítica de la enzima RH a dos concentraciones, por un período de exposición de la grasa butírica de 100 minutos, se obtuvieron valores de acidez (expresada como % de ácido oleico) de 0.79 y 5.72%.

El primer dato corresponde a una concentración de enzima de 0.0072% y el segundo a 0.3%.

La concentración de 0.0072% es la recomendada por el fabricante, sin embargo, para los fines de este trabajo, el grado de acidez obtenido estuvo por debajo del requerido: 3.0%, el cual nos indicaría una cantidad de ácidos grasos libres de 1793mg/Kg de queso, valor que se tomó como referencia por corresponder al que se encuentra en el queso Cheddar.

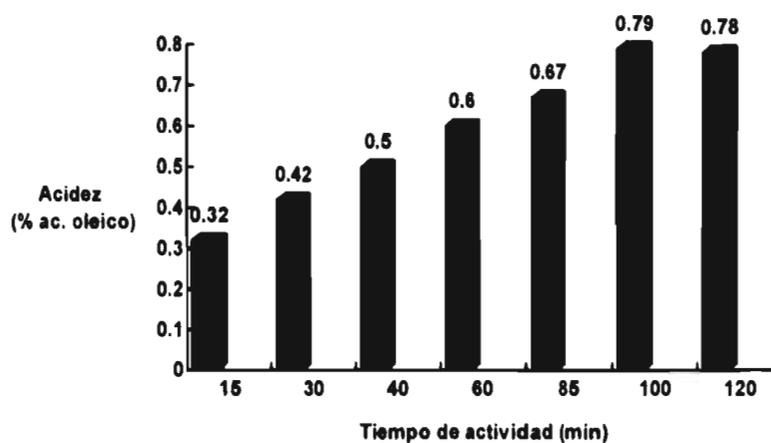
Este 3.0% de acidez se debe a los ácidos grasos libres formados en la grasa butírica, la cual se encuentra en el producto final en un 5.98%, la conversión de ácidos grasos libres en el producto final a partir de esta acidez fue necesaria para determinar si este valor estaba próximo al del queso Cheddar tomado como referencia.

Por lo antes mencionado, fue la concentración de 0.3% la seleccionada para la elaboración de los tratamientos subsecuentes.

Los resultados de la cinética de la lipólisis utilizando ambas concentraciones, pueden observarse en las Gráficas 1 y 2.

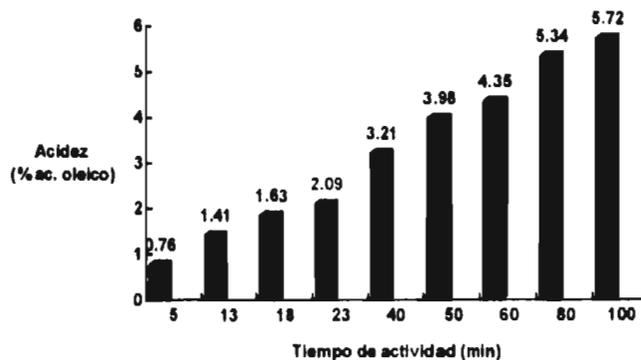
Con 0.3% de enzima, se observa que el porcentaje de acidez aumentó conforme al tiempo de exposición y en este intervalo estudiado, el comportamiento fue linealmente dependiente del tiempo.

ACTIVIDAD ENZIMATICA 0.0072% LIPASA



GRAFICA 1

ACTIVIDAD ENZIMATICA 0.3% LIPASA



GRAFICA 2

La variación en la acidez titulable con respecto al tiempo se debió a la producción de ácidos grasos libres, por lo que la diferencia entre la acidez inicial de la grasa y la obtenida al final de la lipólisis estuvo relacionada directamente con el porcentaje de ácidos grasos generados.

Se observó que aproximadamente a los 30 minutos de acción lipolítica, se obtenía el valor de acidez similar al del queso Cheddar, que se considera, en este aspecto semejante al queso tipo Chihuahua.

En el siguiente cuadro se presentan los valores obtenidos de ácidos grasos libres por kilogramo de queso a diferentes tiempos de lipólisis:

**CUADRO 13.  
ACIDOS GRASOS LIBRES POR KILOGRAMO DE QUESO.**

<b>TIEMPO (min)</b>	<b>ACIDEZ (% ac.oleico)</b>	<b>AC.GRASOS LIBRES (mg/Kg queso)</b>
5	0.76%	454.48
13	1.41%	843.18
18	1.83%	1094.34
23	2.09%	1249.82
30	2.90%	1734.20
40	3.21%	1919.58
50	3.98%	2380.04
60	4.35%	2601.30
80	5.34%	3193.32
100	5.72%	3420.56

Se hicieron análogos con grasa tratada con lipasa durante 30 minutos (2.9% de acidez) y se aplicaron dos más de 5.34 y 5.72% de acidez, correspondientes a 80 y 100 minutos de exposición de la grasa butírica a la

acción de la enzima, para compararlos posteriormente desde un punto de vista sensorial.

Se sabe que para la producción de sabores en queso natural, cuando se desea acelerar la maduración, pueden utilizarse precursores de sabor, los cuales involucran principalmente un sistema de ácidos grasos, aldehídos y cetonas. Se ha informado que la adición de ácidos grasos libres a la leche, mejora la calidad del sabor y reduce también el tiempo de maduración.

La presencia de los ácidos grasos libres en el análogo se utilizó entonces, como agente saborizante.

#### 4.3. EVALUACION SENSORIAL

##### 4.3.1. ANALISIS DE VARIANZA PARA EL GRUPO DE ANALOGOS CON GRASA MODIFICADA ENZIMATICAMENTE

**CUADRO 14.  
ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL  
DE LOS ANALOGOS CON DISTINTOS GRADOS DE LIPOLISIS**

FUENTES DE LA VARIACION	gl	SC	CM	F	F TABLAS NIVEL SIGNIFICANCIA	
					0.01	0.05
Muestras	2	2.066	1.033	1.033	3.15	4.98
Jueces	29	0	0	0		
Error	58	57.934	1.0			
Total	89	60				

La intensidad del sabor en un queso es proporcional al grado de lipólisis de la grasa; no obstante, los resultados de la evaluación sensorial de los análogos elaborados con grasa modificada enzimáticamente en distintos niveles, no mostró diferencia significativa.

Esto parece indicar que las variaciones en los valores de porcentajes de ácidos grasos libres de los análogos no pudieron ser detectados por los jueces que realizaron la evaluación, o que su contribución al sabor no aumentó significativamente.

Ante los resultados anteriores, se procedió a determinar la frecuencia de preferencia de los jueces; siendo el análogo que incluyó la grasa tratada durante 30 minutos, el que obtuvo mayor calificación en un grado de "gusta moderadamente".

En este estudio se corroboró que la modificación enzimática de la grasa, que se basa en los mismos cambios que ocurren en el proceso tradicional de maduración, es eficiente en la generación de sabor de un producto sintético, como es el análogo de queso.

Cabe resaltar la ventaja que implica el poder controlar el grado de modificación de la grasa, lo que permite ampliar la gama de sabor.

Al aplicar una prueba triangular, entre el análogo con la grasa expuesta 30 minutos a la acción enzimática y el de 100 minutos, los jueces no fueron capaces de identificar el par de muestras que era igual.

Ambas pruebas fueron realizadas con jueces no entrenados, factor que contribuyó a que difícilmente se percibiera la diferencia en las notas de sabor.

#### **4.3.2. ANALISIS DE VARIANZA DE LOS ANALOGOS ELABORADOS CON SABOR ARTIFICIAL**

Los resultados del análisis de varianza de los análogos a los que se aplicaron los sabores artificiales se muestran en el cuadro 15.

**CUADRO 16.  
ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL  
DE LOS ANALOGOS CON SABORIZANTES ARTIFICIALES**

FUENTES DE LA VARIACION	gl	SC	CM	F	TABLA F NIVEL DE SIGNIFICANCIA	
					0.01	0.05
Muestras	1	9.6	9.6	1.98	4.18	7.60
Error	29	140.4				

Los resultados de la evaluación no mostraron una diferencia significativa entre la muestra del análogo que contenía 2ml de saborizante de Firmenich y la muestra que contenía 5ml del mismo.

La dosis que presentó mayor preferencia fue la de 5 ml de saborizante.

Ambos grupos de análogos fueron evaluados adicionalmente por jueces entrenados, quienes seleccionaron al análogo que contenía grasa modificada durante 80 minutos y al análogo que contenía 2ml de sabor artificial de Robertet como los de mejor sabor.

La diferencia en la preferencia que se mostró entre el grupo de jueces no entrenados y el de entrenados, supone la habilidad de los segundos para detectar de manera más precisa las notas de sabor, que se sabe son muy sutiles para el grupo de quesos tipo Chihuahua, Manchego y Cheddar.

#### **4.3.3. ANALISIS DE VARIANZA PARA EL GRUPO DE ANALOGOS DE QUESO COMBINANDO AMBOS METODOS DE SABORIZACION**

Fundamentándose en el hecho de que los ácidos grasos libres o los monoglicéridos y diglicéridos contribuyen en la emulsificación de muchos componentes del sabor<sup>6</sup>, se decidió estudiar un tercer grupo de análogos, combinando los tratamientos enzimático y con saborizantes artificiales; mismos

<sup>6</sup>Moskowitz G J. "Enzyme-Modified Cheese Technology. JDS. 1987.

que se eligieron con base a la preferencia de los jueces entrenados.

Se integraron el tratamiento enzimático de 80 minutos con 2 ml de sabor Robertet; 80 minutos con 4 ml del mismo sabor y 80 minutos con 6 ml.

La variable en estos análogos fue la concentración de saborizante (2, 4 y 6 ml), ya que las diferencias en sabor de los tiempos de lipólisis estudiados, no fueron relevantes.

Este tercer grupo fue evaluado sensorialmente por 30 jueces no entrenados, de la misma forma que los grupos anteriores y el ANOVA no mostró diferencia significativa entre los tratamientos.

**CUADRO 16.  
ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL  
DE LOS ANALOGOS COMBINANDO AMBOS METODOS DE  
SABORIZACION**

FUENTES DE LA VARIACION	gl	SC	CM	F	F TABLAS NIVEL SIGNIFICANCIA	
					0.01	0.05
Muestras	2	2.066	1.033	1.033	3.15	4.98
Jueces	29	0	0	0		
Error	58	57.934	1.0			
Total	89	60				

El de mayor frecuencia de preferencia fue el de 80 minutos con 4 ml de sabor artificial. De acuerdo a los resultados se puede inferir que el rango de concentraciones de sabor utilizadas no provocó diferencias pronunciadas en el sabor de los análogos.

#### 4.3.4. ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS ANALOGOS MEJOR CALIFICADOS

Al comparar entre sí el mejor producto de cada grupo: análogos con distintos grados de lipólisis, con diferentes dosis de saborizante de Firmenich y combinando ambos métodos de producción de sabor, participando 20 jueces no entrenados, se obtuvieron los siguientes resultados.

**CUADRO 17.  
ANALISIS DE VARIANZA DE LA EVALUACION SENSORIAL  
DE LOS ANALOGOS MEJOR CALIFICADOS DE CADA GRUPO**

FUENTES DE LA VARIACION	gl	SC	CM	F	F TABLAS NIVEL DE SIGNIFICANCIA	
					0.01	0.05
Muestras	2	1.2	0.6	0.588	3.23	5.28
Error	38	38.8				

Este cuarto grupo de análogos, constituido por aquellos que habían obtenido las mejores calificaciones de su grupo, no mostraron diferencia significativa, sin embargo hubo mayor preferencia por el análogo en el que se combinaron los métodos de saborización: elaborado con grasa modificada durante 80 minutos y 4 ml de sabor artificial. Lo anterior concuerda con lo informado en relación a que los productos de una lipólisis controlada, aumentan la capacidad de disolución de compuestos del sabor, provocando que aumente la percepción del mismo<sup>7</sup>.

A partir de una prueba de escala hedónica, aplicada a este último análogo de queso, se obtuvo una calificación unánime de "gusta moderadamente". Se corrobora que hay un efecto combinado positivo entre los sabores generados por la lipólisis de la grasa butírica y la adición de un sabor artificial en la definición del sabor, lo que tuvo como consecuencia la aceptación sensorial del producto.

<sup>7</sup> Moskowitz G.J. "Enzyme-Modified Cheese Technology". JDS. 1987.

# CAPITULO 5

## **CONCLUSIONES**

- 1.- El empleo de caseinatos y una grasa hidrogenada como principales ingredientes en la elaboración de análogos de queso representan una buena opción para obtener un producto con características de textura y palatabilidad sensorialmente aceptables.**
- 2.- La lipólisis enzimática de la grasa butírica permitió mejorar el sabor de los análogos, mediante la liberación de ácidos grasos libres.**
- 3.- La concentración de 0.3% de enzima favoreció su actividad permitiendo la obtención de la acidez deseada en un tiempo muy corto, de 30 minutos.**
- 4.- El incremento en la cantidad de saborizante artificial no tuvo un efecto suficiente en el aumento de sabor.**
- 5.- El desarrollo de sabor utilizando grasa modificada enzimáticamente en combinación con un saborizante artificial tuvo un efecto positivo en la percepción del mismo.**

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Atlas Mundial del Queso. Revista de Geografía Universal. Editores, S.A. 1980 p.p. 3, 11-15.
- 2.- KEATING PATRICK FRANCIS, GAONA HOMERO. Introducción a la lactología. Ed.Limusa. México, 1986. p.p. 167-266.
- 3.- ALAIS CHARLES. Ciencia de la leche. Ed.CECSA. México, 1989. p.p. 484-528.
- 4.- REVILLA AURELIO. Tecnología de la leche. Ed.IICA. San José, Costa Rica 1985. p.p. 195-196.
- 5.- PORTER J.W.G. Leche y productos lácteos. Ed.Acribia. Zaragoza,España 1985. p.p. 54-57.
- 6.- NORMA OFICIAL MEXICANA. Queso tipo Chihuahua. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. NOM-F-209- 1985.
- 7.- KIRK R.E, OTHMER D.F. Enciclopedia de Tecnología Química. Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana. México,1962. Vol.10. p.p. 33-40.
- 8.- KOSIKOWSKI F. Cheese and fermented milk foods. F.V. Kosikowski and Associates. U.S.A,1977. p.p. 90-94, 97, 101-104, 106-108, 470-480.
- 9.- WALSTRA P, JENNES R. Química y Física Lactológica. Ed.Acribia. Zaragoza,España 1987. pág. 317.
- 10.- BADUI DERGAL SALVADOR. Química de los alimentos. Ed.Alhambra. México,1988. p.p. 295-296, 303-304.
- 11.- BOZZI M.J. Cheese analog advantages range beyond economical aspects. Food product development 14:6. p.p. 42-48. 1980.
- 12.- DIETZ JAMES H. Y ZIEMBA J. New imitation cheese are versatile. Food Engineering. p.p. 60 y 61. 1972.
- 13.- RULE et al. Preparation of imitation Mozzarella Cheese. U.S. Patent No. 4,075,360. 1978.

- 14.- DUXBURY D.D. Imitation cheese market growth based on improved quality variety, custom formulation. Food processing 46:10. 1985.
- 15.- SHIMP L.A. Process cheese principles. Food Technology 39:5. p.p. 63-70. May, 1985.
- 16.- BAUMAN H.E. Process for rapid manufacture of cheese product. U.S. Patent No. 2,965,492. 1960.
- 17.- RUIZ FERMIN. Análogos de queso. Lácteos Mexicanos 3:6. p.p. 8-11. 1989.
- 18.- VAN GENNIP et al. Process for the manufacturing of cheese and cheese like products. U.S. Patent No. 4,744,988. 1988.
- 19.- SEIDEN PAUL. Preparation of synthetic cheese. U.S. Patent No. 3,806,606. 1974.
- 20.- SWANSON et al. Natural Cheese analog. U.S. Patent No. 4,343,817. 1982.
- 21.- ROBSON E.W Y DALGLEISH. Interfacial Composition of Sodium Caseinate Emulsions. Journal of Food Science 52:6. p.p. 1694-1698. 1987.
- 22.- CAMPOS ALEJANDRA. Composición de saborizantes-Biotecnología. Lácteos Mexicanos 3:4. p.p. 16-18. 1988.
- 23.- BYNUM D.G. Determination of Free Fatty Acid content of Cheddar Cheese by a Copper Soap Method. Journal of Dairy Science. Vol.67. p.p. 1521-1524. 1983.
- 24.- IKINGS W.G. Comparison of Methods for quantitation of free fatty acids in cheese. Journal of Food Science 53:6. p.p. 1915-1916. 1988.
- 25.- WOO A.H Y LINDSAY R.C. Concentrations of Major Free Fatty Acids and Flavor Development. Journal of Dairy Science 67:5. p.p. 960-968.
- 26.- ARNOLD R.G, SHAHANI K.M Y DWIVEDI K. Application of Lipolytic Enzymes to Flavor Development in Dairy Products. Journal of Dairy Science 58:8. p.p. 1127-1143.
- 27.- SHIPE W.F, LEE E.C Y SENYK G.F. Enzymatic Modification of Milk Flavor. Journal of Dairy Science 58:8. p.p. 1123-1126. 1974.

- 28.- LIN J.C.C Y JEON I.J. Effects of Commercial Food Grade Enzymes on Free Fatty Acid Profiles in Granular Cheddar Cheese. Journal of Food Science 52:1. 1987. p.p. 78-83.
- 29.- MOSKOWITZ G.J Y NOELCK S.S. Enzyme-Modified Cheese Technology. Journal of Dairy Science 70:8. p.p. 1761-1769. 1987.
- 30.- SEITZ E.W. Industrial application of microbial lipases: A review. Journal of the American Oil Chemists Society. Vol.51. p.p. 12-16. 1974.
- 31.- POSORSKE L.H. Industrial-Scale Application of Enzymes to the Fats and Oil Industry. JAOCS 61:11. p.p. 1758-1760. 1984.
- 32.- SHAHANI KHEM M. Lipases and esterasas. Enzymes in food processing. G.Reed, ed. Academic Press. p.p. 182-215. New York, 1974.
- 33.- LOBATO C.C.S. Efecto de la Adición de caseinato de sodio en las propiedades reológicas de queso fresco tipo panela modificado. Tesis Universidad Iberoamericana. México,D.F. 1987.
- 34.- EGAN H, KIRK R Y SAWYER R. Análisis químico de alimentos de Pearson. Compañía Editorial Continental. México,1988. p.p. 508-510.
- 35.- Principles in Dairy Chemistry. p.p. 360-373.
- 36.- VELES ORTEGA GISELA. Desarrollo de un análogo de queso a partir de caseinatos. Tesis Universidad Veracruzana. México,1922. pág. 23.
- 37.- FORSS Y SUGISAWA. Brief Reviews of Dairy and Soy Products. p.p. 356-367.
- 38.- FLATH, SUGISAWA Y TERANISHI. Problems in Flavor Research. p.p. 2-9.
- 39.- PEDRERO D.L. Y PANGBORN R.M. Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos Analíticos. Ed.Alhambra Mexicana. México,1989. p.p. 15-20, 77-78, 104-107.
- 40.- KUANG. Fatty Acids in Foods and their health implications. Marcel Dekker, Inc. New York, 1992. p.p. 119,121.