

Vinculación entre modificaciones texturales y
microestructura durante la maduración de quesos en
películas plásticas

Nora Cristina Bertola

Tesis presentada para el grado de:

Doctor en Ingeniería

Departamento de Ingeniería Química,

Facultad de Ingeniería,

Universidad Nacional de La Plata

Abril de 1992

El presente trabajo de tesis para optar al título de Dr en Ingeniería, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, bajo la dirección de la Dra Noemí Zaritzky.

A la memoria de mamá,
que fue el principal motor,
que me impulsó para llegar hasta aquí

Mi Agradecimiento

A la Dra Noemí Zaritzky, por haberme dado la posibilidad de iniciarme en la investigación bajo su dirección, brindandome todo su conocimiento y experiencia que junto a su estímulo constante me permitieron llevar a término el presente trabajo de tesis.

A la Ing. Alicia Bevilacqua, por el apoyo y guía recibidos a lo largo de la realización de las experiencias que se presentan en este trabajo y por su invaluable colaboración en la revisión de los originales.

A la Dra Alicia Califano por su colaboración en el manejo de las computadoras.

A la Dra Alicia Chaves por su asesoramiento en el uso del Cromatógrafo gaseoso.

A la Arq. Beatriz Bertola por su esmerada colaboración mediante la realización de los gráficos presentados en este trabajo.

A la firma Unión Gandarense S.A.C.I.A por la donación de las muestras utilizadas.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC) por el apoyo económico recibido.

Y a mis compañeros del CIDCA por haberme dado su apoyo y amistad a lo largo de los cinco años compartidos.

Parte de los resultados presentados en esta tesis han sido publicados en los siguientes trabajos:

- Changes in rheological and viscoelastic properties and protein breakdown during the ripening of "Port Salut Argentino cheese". N. C. Bertola, A. E. Bevilacqua y N. E. Zaritzky. International Journal of Food Science and Technology. 26: 467-478. (1991).

- Proteolytic and rheological evaluation of maturation of Tybo Argentino cheese. N. C Bertola, A. E. Bevilacqua y N. E. Zaritzky. Journal of Dairy Science. En prensa. (1992).

"Cavad la tierra donde sea y encontraréis un tesoro: sólo que debéis hacerlo con la fe del campesino"

Khalil Gibran, Arena y Espuma

INDICE

	Pag.
1. INTRODUCCION	
1.1. Consideraciones generales.....	1
1.2. Breve descripción de la materia prima: leche.....	1
1.3. Clasificación de quesos.....	5
1.4. Elaboración	
1.4.1. Preparación de la leche.....	6
1.4.2. Acidificación.....	7
1.4.3. Coagulación o cuajado de la leche.....	8
1.4.4. Operaciones de poscoagulación	
1.4.4.1. Cortado del coágulo.....	12
1.4.4.2. Agitación.....	13
1.4.4.3. Cocción.....	13
1.4.4.4. Lavado.....	14
1.4.4.5. Moldeado.....	14
1.4.4.6. Prensado.....	15
1.4.4.7. Salado.....	15
1.5. Maduración.....	16
1.5.1. Agentes de la maduración.....	17
1.5.2. Modo de acción de los microorganismos.....	20
1.5.3. Condiciones de la maduración.....	20
1.5.4. Glicólisis.....	22
1.5.5. Lipólisis.....	23
1.5.6. Proteólisis.....	24
1.5.7. Vinculación entre la maduración y el desarrollo de las características organolépticas el queso.....	24
1.6. Envasado	
1.6.1. Maduración tradicional.....	26
1.6.2. Maduración en película plástica.....	26
1.6.2.1. Características de los materiales plásticos utilizados en el envasado.....	27
1.6.2.2. Beneficios de la maduración en película.....	29
1.7. Consideraciones finales.....	30

1.8. Objetivos.....	32
----------------------------	-----------

2. PERMEABILIDAD DE PELICULAS PLASTICAS FLEXIBLES

2.1. Introducción.....	34
2.1.1. Teoría de la permeabilidad a los gases de los materiales sintéticos.....	34
2.1.2. Medición de la permeabilidad gaseosa.....	36
2.1.3. Permeabilidad de películas plásticas a gases puros.....	37
2.1.4. Permeabilidad a gases húmedos.....	39
2.2. Materiales y métodos	
2.2.1. Películas plásticas utilizadas.....	40
2.2.2. Medida de la permeabilidad gaseosa	
2.2.2.1. Descripción de la celda.....	41
2.2.2.2. Método de medida por incremento de concentración.....	41
2.2.3. Planteo de las ecuaciones: Deducción de la ecuación que permite el cálculo de la permeabilidad.....	43
2.2.4. Análisis de las muestras gaseosas.....	46
2.2.5. Regresión de los datos experimentales.....	46
2.3. Resultados	
2.3.1. Determinación de la permeabilidad al dióxido de carbono.....	47
2.3.2. Efecto de la temperatura sobre la permeabilidad....	53
2.3.3. Relación entre las permeabilidades al dióxido de carbono y al oxígeno.....	55
2.4. Discusión.....	55

3. MATERIAS PRIMAS

3.1. Muestras de queso.....	57
3.1.1. Queso Port Salut Argentino	57
3.1.1.1. Método de elaboración.....	57

3.1.2. Queso Tybo Argentino.....	58
3.1.2.1. Método de elaboración.....	58

4. COMPORTAMIENTO REOLOGICO

4.1. Introducción

4.1.1. Ensayos fuerza - deformación.....	60
--	----

4.1.2. Ensayos de viscoelasticidad.....	61
---	----

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Determinaciones de textura por ensayos de compresión.....	63
---	----

4.2.1.1. Curvas fuerza - deformación.....	64
---	----

4.2.1.1.1. Cálculo de las áreas.....	67
--------------------------------------	----

4.2.1.2. Curvas de relajación.....	67
------------------------------------	----

4.3. Resultados y Discusión

4.3.1. Curvas fuerza - deformación.....	68
---	----

4.3.1.1. Queso Port Salut.....	68
--------------------------------	----

4.3.1.2. Queso Tybo.....	74
--------------------------	----

4.3.2. Ensayos de relajación.....	80
-----------------------------------	----

4.3.2.1. Queso Port Salut.....	85
--------------------------------	----

4.3.2.2. Queso Tybo.....	85
--------------------------	----

5. PROTEOLISIS

5.1. Introducción.....	95
------------------------	----

5.2. Materiales y Métodos

5.2.1. Muestreo.....	97
----------------------	----

5.2.2. Determinaciones fisicoquímicas.....	97
--	----

5.2.3. Determinación de proteínas.....	97
--	----

5.2.3.1. Determinación de nitrógeno total.....	98
--	----

5.2.3.2. Determinación de nitrógeno soluble.....	98
--	----

5.2.3.3. Determinación de nitrógeno no proteico.....	99
--	----

5.2.4. Determinación de caseínas

5.2.4.1. Extracción de las caseínas.....	100
--	-----

5.2.4.2. Electroforésis.....	100
5.2.4.2.1. Soluciones utilizadas.....	101
5.2.4.2.2. Preparación de las placas de poliacrilamida....	102
5.2.4.2.3. Preparación de las muestras de proteínas de queso y patrones.....	102
5.2.4.2.4. Condiciones de corrida.....	103
5.2.4.2.5. Coloración de las bandas.....	103
5.2.4.2.6. Análisis densitométrico.....	103
5.4. Resultados	
5.3.1. Humedad y pH.....	104
5.3.1.1. Queso Port Salut.....	104
5.3.1.2. Queso Tybo.....	104
5.3.2. Indices de maduración y proteólisis.....	104
5.3.2.1. Queso Port Salut.....	105
5.3.2.2. Queso Tybo.....	105
5.3.3. Degradación de caseínas.....	110
5.3.3.1. Queso Port Salut.....	110
5.3.3.2. Queso Tybo.....	114
5.4. Discusión.....	114
5.4.1. Relación entre parámetros reológicos y grado de maduración.....	116
6. CONCLUSIONES.....	123
BIBLIOGRAFIA.....	127
NOMENCLATURA.....	139

CAPITULO 1
INTRODUCCION

1.1. CONSIDERACIONES GENERALES

La manufactura del queso es uno de los ejemplos clásicos de preservación de alimentos, que comenzó entre 6000 y 7000 años A.C. La conservación de dos de los más importantes constituyentes de la leche (grasa y proteína) como queso, hace uso de dos de los principios clásicos de la preservación de alimentos: fermentación ácido-láctica y reducción de aw por medio de la eliminación de agua y el agregado de cloruro de sodio.

Alrededor de 500 variedades de quesos son producidas en el mundo. La producción actual es de aproximadamente 10^7 toneladas al año con un incremento de 4% al año. En la Argentina se produjeron 258412 ton de quesos en el año 1988, de los cuales la mayor producción correspondió a los de pasta blanda con el 45.53% del total de quesos, mientras que los semiduros conformaron el 37.48%, los de pasta dura el 14.61% y los reelaborados o fundidos el 2.38%

Las etapas básicas de la elaboración, que son comunes a la mayoría de las variedades, son acidificación, coagulación, deshidratación (cortado del coágulo, cocción, agitación, prensado), moldeado y salado. La fabricación del queso es esencialmente un proceso de deshidratación en el cual la grasa y la caseína de la leche son concentradas. El grado de hidratación depende de la variedad y es regulado por la extensión de las distintas operaciones y por la composición química de la leche. El nivel de humedad, el contenido de sal y la microflora regulan los cambios bioquímicos que ocurren durante la maduración y determinan el flavor, aroma y textura del queso terminado.

1.2. BREVE DESCRIPCION DE LA MATERIA PRIMA: LECHE

La leche constituye la secreción normal de las glándulas

mamarias de las hembras de los mamíferos. Contiene sustancias nutritivas, como proteínas, grasa, hidratos de carbono, sales, vitaminas, enzimas, pigmentos, elementos trazas, ácidos orgánicos, lípidos y gases.

El conjunto de los elementos enumerados, excluidos los gases, constituyen el extracto seco, y se hallan en la leche en diferentes estados físicos. El componente más abundante es el agua, oscilando su riqueza entre el 83 y el 89 %. Las sales y los azúcares se encuentran formando una disolución acuosa, las proteínas, en su mayor parte, en estado coloidal, constituyendo la fase dispersante una disolución acuosa de sales, azúcares y proteínas. (Johnson, 1974; Dilanjan, 1984).

Agua

El agua se halla en la leche en dos formas: libre y ligada. La segunda no interviene en los procesos enzimáticos ni en los microbiológicos. El agua libre es de gran importancia en queiería, porque muchos de los procesos fisicoquímicos y microbiológicos que tienen lugar en la elaboración del queso exigen su intervención y porque regulando su contenido, se confiere al queso la consistencia deseada.

Grasa

Es la más variable de todos los componentes de la leche, con un contenido que oscila entre 2.6 y 6.0%. Consiste principalmente de triglicéridos, que representan el 98 - 99% del total de los lípidos. El restante 1 - 2% de la grasa está compuesto por fosfolípidos, esteroides, carotenoides, vitaminas A, D, E y K y algunos ácidos grasos libres.

Se conocen más de 150 ácidos grasos diferentes en la leche; sin embargo, solamente unos 15 de ellos se encuentran en cantidades notables. Los hay saturados y no saturados. Los saturados representan el 55-56% del total de ácidos grasos. Los más abundantes son el ácido mirístico, el palmítico y el esteárico que

representan, cerca del 50% de los ácidos grasos. Los ácidos saturados de pequeño peso molecular, como el butírico, caproico, caprílico y cáprico constituyen el 8-9% de los ácidos grasos. La presencia de estos ácidos en tal cantidad es un carácter esencial de la grasa de leche. Entre los ácidos insaturados, el oléico es el más importante, pues representa el 30-35% del conjunto de los ácidos grasos.

Lactosa

Este disacárido cuyo contenido en la leche oscila entre el 4 y el 5.2%, es el azúcar característico de la leche y es el sólido predominante, constituyendo el 50 - 52% de los sólidos totales. Presenta gran importancia en la elaboración del queso ya que bajo la acción de las enzimas bacterianas produce compuestos, que confieren al queso su sabor y aroma característico.

Sales

Es preciso distinguir entre las sustancias salinas (9-9.5g/l) y las materias minerales (7-7.5g/l), que frecuentemente se identifican con las cenizas. Es habitual distinguir las sales mayoritarias o macroelementos y los oligoelementos. Las primeras están constituidas fundamentalmente por cloruros, fosfatos, citratos de potasio, calcio, sodio y magnesio. Entre los segundos, muy numerosos y variables, figuran el aluminio, bromo, cinc, manganeso y sobre todo el hierro y cobre. No todas las materias salinas están en disolución. Una parte importante se encuentra en la fase coloidal de la leche asociada a las micelas de caseína.

Proteínas

Las proteínas de la leche oscilan entre el 2.5 y 4.5% del total de los componentes. Se dividen en tres fracciones fundamentales: caseínas, albúminas y globulinas. Están compuestas por unos 20 o más aminoácidos, entre los que se destacan: glicocola o glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina,

lisina, arginina, metionina, cistina, ácido aspártico, ácido glutámico, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina y prolina.

La principal proteína de la leche, la caseína, que representa el 80% del total, es de elevado peso molecular, esta compuesta por 19 aminoácidos diferentes y se diferencia de las restantes proteínas lácteas por su alto contenido en fósforo. De acuerdo a su composición, a la secuencia de aminoácidos y genotipos, las caseínas son clasificadas en cuatro diferentes fracciones α_{s1} , α_{s2} , β , κ caseinas, en la proporción 3:1:3:1. Además de sus variantes genéticas estas caseínas se diferencian dentro de cada fracción de acuerdo al grado de fosforilación o contenido de glúcidos. El grupo α_{s1} está compuesto por una mezcla de α_{s0} y α_{s1} con 9 y 8 grupos fosfato respectivamente siendo la α_{s1} la predominante. Esta fracción esta formada por 199 aminoácidos y tiene un peso molecular de 23600. El grupo α_{s2} está compuesto por 5 proteínas (α_{s2} , α_{s3} , α_{s4} , α_{s6} y α_{s5} , siendo la última un dímero de α_{s3} y α_{s4}) con un contenido de fosfato de 10 a 13 por molécula; asimismo está constituida por 207 aminoácidos y tiene un peso molecular promedio de 25200. La β caseína (209 aminoácidos) que contiene 5 fosfatos y un peso molecular de 24000, bajo la acción de proteasas produce 3 componentes llamados γ caseínas. La κ caseína (169 aminoácidos) con un sólo grupo fosfato y un peso molecular de 19000, existe en 7 diferentes formas (κ_1 a κ_7) de acuerdo a su contenido de glúcidos.

En la leche la caseína se encuentra formando un complejo de fosfocaseinato cálcico en disolución coloidal constituido por micelas de distintos tamaños (20 a 600nm) e igual carga negativa, lo que determina que se repelan entre sí.

Las fracciones albúmina y globulina son también heterogéneas y están integradas por varias subfracciones; son poco abundantes (15% la albúmina y 2.4% la globulina) y al elaborar el queso quedan disueltas en el suero. (Veisseyre, 1980; Swaisgood, 1982; Dilanjan, 1984; Grappin y col, 1985).

1.3. CLASIFICACION DE QUESOS

La gran cantidad de variedades de quesos, incluyendo las variantes dentro de cada una debido al tamaño, forma, lugar de manufactura, tipo de leche, etc, hace a la clasificación de los quesos extremadamente complicada.

Una clasificación amplia podría ser la siguiente: (Fox,1987)

1. Quesos muy duros (contenido de agua < 25%).

1.1. Madurados por bacterias: Adiago, Parmesano, Romano

2. Quesos duros (contenido de agua entre 25 y 36%)

2.1. Madurados por bacterias, sin ojos: Cheddar, Caciocavallo

2.2. Madurados por bacterias, con ojos: Emmental, Gruyere

3. Quesos semiblandos (contenido de agua entre 36 y 40%)

3.1. Madurados principalmente por bacterias: Brick, Munster

3.2. Madurados por bacterias y superficialmente por otros microorganismos: Limburger, Trappist

3.3. Madurados principalmente por hongos en el interior: Roquefort, Gorgonzola, Danablu, Stilton

4. Quesos blandos (contenido de agua > 40%)

4.1. Madurados: Bel Paese, Brie, Camembert, Hand, Port Salut

4.2. No madurados: Cottage, Pot, Cream, Ricota, Primast

Según el Código Alimentario Argentino la clasificación de los quesos puede hacerse según el contenido de agua o según el contenido de grasa del extracto seco. En el primero de los casos la clasificación propuesta por dicho código es la siguiente:

- Quesos de pasta blanda o quesos frescos: contenido de agua entre 44 y 55%.

- Quesos de pasta semidura: contenido de agua entre 36 y

44%.

-Quesos de pasta dura: contenido de agua entre 21 y 35%.

Según el contenido de grasa la clasificación es la siguiente:

- Quesos doble crema: contenido de materia grasa mayor del 60%.

- Quesos grasos: contenido de materia grasa entre 40 y 59.9%.

- Quesos semigrasos: contenido de materia grasa entre 25 y 39.9%.

- Quesos magros: contenido de materia grasa entre 10 y 24.9%.

- Quesos de leche descremada: contenido de materia grasa menor del 10%.

1.4. ELABORACION

1.4.1. Preparación de la leche

La manufactura del queso comienza con la selección de leche de alta calidad química y microbiológica. A pesar de que la leche cruda es aún usada, la mayoría es ahora pasteurizada.

Desde el punto de vista higiénico, la pasteurización de la leche asegura el saneamiento del queso, ya que se eliminan bacterias patógenas.

Desde el punto de vista técnico, al interrumpir la acidificación por destrucción de la flora láctica, permite la utilización de leches cuya mediocre calidad bacteriológica perjudicaría seriamente la fabricación, si fuesen tratadas en estado crudo.

Desafortunadamente durante el tratamiento térmico algunas bacterias útiles en el proceso de fabricación del queso, como bacterias lácticas, son destruidas al igual que algunas enzimas de la leche como lipasas que actúan en la formación del flavor. Además hay que considerar las modificaciones que produce el calentamiento en la composición y en la estructura fisicoquímica de la leche, como la desnaturalización de la lactoalbúmina y la lactoglobulina, que son retenidas en la cuajada, durante el desuerado de lo que resulta un incremento sensible del rendimiento, pero dificulta el desuerado profundo del queso ya que fijan enérgicamente el agua.

Las condiciones de tiempo y temperatura utilizados en la pasteurización de la leche para quesería dependen de los objetivos que se quieran alcanzar. Así, bajas temperaturas (65°C) son usadas si se desea mantener intactas las lipasas, pero si se desea destruir todas las bacterias patógenas se necesitan temperaturas más altas (71.6°C por 15 seg). (Veisseyre, 1980; Scott, 1981).

1.4.2. Acidificación

La primera de las operaciones básicas es la acidificación, que se traduce en el progresivo desarrollo de acidez a través de la manufactura y en algunas variedades, durante las primeras etapas de la maduración.

En la mayor parte de la práctica industrial se le agrega a la leche pasteurizada y enfriada (21 - 26°C), un fermento de bacterias lácticas seleccionadas (starter) productoras de ácido láctico. El starter es agregado de acuerdo a la fórmula del queso en cantidades que van de 0.05 a 4%. Para las variedades de queso que sufren un proceso de cocción a no más de 40°C, el starter normalmente usado consiste de Streptococcus lactis y/o Streptococcus cremoris; para temperaturas mayores se utilizan Streptococcus

thermophilus y/o Lactobacillus spp (L. bulgaricus, L. helveticus, L. casei). Esta maduración de la leche por el starter puede prolongarse hasta 2 horas, mientras que la inoculación de grandes cantidades de fermentos (2 - 4%) acorta este tiempo a 5 - 20 minutos.

La apropiada velocidad en la producción de ácido láctico es la clave en la manufactura de un queso de buena calidad ya que afecta varios aspectos en la elaboración como:

- a) Actividad del coagulante
- b) Desnaturalización y retención del coagulante en la cuajada durante la manufactura, lo cual regula el nivel de coagulante residual y así la velocidad de proteólisis.
- c) Solidez de la cuajada
- d) Sinéresis del gel, que controla la humedad del queso y así regula el desarrollo de bacterias y la actividad de las enzimas; esto influye en la velocidad de la maduración y la calidad del queso.
- e) La velocidad de descenso del pH determina la extensión de la disolución del fosfato de calcio coloidal, lo cual modifica la susceptibilidad de las caseínas a la proteólisis durante la maduración influyendo en las propiedades reológicas del queso.
- f) Control del desarrollo de algunas especies no pertenecientes al starter, especialmente patógenas y productoras de gas. (Scott, 1981; Fox, 1987).

1.4.3. Coagulación o cuajado de la leche

Una de las fases esenciales en la manufactura de todas las variedades de queso es el cuajado o coagulación de la leche. Físicamente, el fenómeno se traduce en la floculación de las micelas de caseína, que se sueldan para formar un gel compacto aprisionando el líquido de dispersión que constituye el suero.

Para realizar esta floculación se recurre a la acidifica-

ción láctica y al cuajo. Ninguno de estos dos métodos de coagulación se utiliza absolutamente aislado. En realidad todas las cuajadas de quesería se obtienen por acción simultánea del cuajo y del ácido láctico proveniente de la transformación de la lactosa por las bacterias lácticas. Sin embargo, siempre existe un predominio de uno de los métodos de floculación citados.

Coagulación láctica o ácida

Las bacterias lácticas, presentes siempre, degradan la lactosa para formar ácido láctico, que reduce el pH de la leche provocando la alteración de las micelas de caseínas y modificando su dispersabilidad. Cuando el pH de la leche llega a ser 5.2 a 20°C, las micelas se han desestabilizado suficientemente para aglomerarse y formar un gel láctico. Al alcanzar el pH el valor correspondiente al punto isoeléctrico de las caseínas que es 4.6, se observa la precipitación de la proteína en forma de flóculos de caseína que nadan en el lactosuero, el cual contiene todo el calcio micelar disuelto.

El gel láctico es firme, poroso y poco contráctil. Su deshidratación es difícil por la importante presencia de agua resultante de la elevada hidratación de las pequeñas partículas, muy dispersas, de caseína desmineralizada.

Este fenómeno, realizado por vías biológicas, es siempre lento; por lo tanto es conveniente asegurarse que la temperatura de la leche sea la conveniente, que la población bacteriana sea la adecuada, tanto en cantidad como en calidad y que el medio sea el apto para el desarrollo de los microorganismos.

Coagulación enzimática

Enzimas coagulantes de la leche han sido usadas desde la antigüedad para la manufactura de queso y otros alimentos, y han sido obtenidas de diversas fuentes. Hasta muy recientemente fue usada casi exclusivamente en la fabricación de quesos comerciales la renina proveniente del estómago de ternero (cuajo). Pero con

el aumento en la producción de quesos se empezaron a utilizar sustitutos como las pepsinas provenientes de animales adultos y proteinasas ácidas producidas por microorganismos como Mucor miehei o menos frecuentemente Mucor pusillus y Endothia parasítica.

La coagulación de la leche bajo la acción del cuajo constituye un proceso muy complejo. Comprende tres fases: en la primera la cual es casi independiente de la temperatura, la enzima divide a la κ caseína entre los aminoácidos 105 (fenilalanina) y el 106 (metionina), produciendo para- κ -caseína y un polipéptido. La segunda fase, es dependiente de la temperatura y además sólo se lleva a cabo en presencia de iones calcio.

Dado que la κ caseína ejerce un efecto estabilizador sobre las micelas de caseína, una vez formada la para- κ -caseína este efecto disminuye y las micelas de caseína se agregan en flóculos y después en fibras que finalmente constituyen una red tridimensional cuya estructura se forma progresivamente. La red retiene en su interior el lactosuero y los glóbulos grasos. La rigidez del gel está asegurada principalmente por el fosfato de calcio coloidal que constituye una verdadera armadura. Los puentes de calcio y el fosfato cálcico coloidal subsisten e incluso probablemente se encuentren reforzados con relación a los presentes en el complejo nativo. Este fenómeno es muy importante pues gobierna el comportamiento del gel y por consiguiente de él depende toda la tecnología quesera.

Durante esta segunda fase de la coagulación se comienza a producir ácido láctico, lo cual causa el incremento de la tensión de la cuajada, así como la ruptura enzimática de algunos componentes de la cuajada.

La tercera fase de actividad de las enzimas coagulantes comienza cuando la cuajada se ha formado y corresponde a la proteólisis de las α y β caseínas. Dicho proceso forma parte de la etapa de maduración de la cuajada.

El gel enzimático es flexible, elástico, compacto, impermeable y contráctil. Esta última propiedad permite efectuar el desuerado.

Los factores de los que depende el desarrollo de la coagulación de la leche por acción del cuajo son numerosos. Intervienen sobre la fase enzimática o sobre la coagulación propiamente dicha. Algunos de esos factores son: la dosis del cuajo, la temperatura, el pH de la leche, el contenido de iones Ca^{++} , el contenido de fosfato coloidal, la dimensión de las micelas de caseína y el contenido de proteínas solubles.

La temperatura de coagulación se elige teniendo en cuenta el grado de maduración y el contenido de grasa de la leche, así como del tipo de queso que se quiera fabricar. La más favorable para la acción enzimática del cuajo es 40 - 41°C. Pero ni a esta temperatura, ni a temperaturas altas se obtiene una cuajada que reúna las características precisas para la elaboración del queso ya que la obtenida de esta manera tiende a ser floculenta y poco compacta. En la práctica se acostumbra a coagular la leche a una temperatura bastante inferior a la óptima, nunca superior a 27 - 35°C. Para la elaboración de quesos blandos se utilizan temperaturas más bajas y para los duros más altas.

Coagulación mixta

Es el resultado de la acción conjunta del cuajo y la acidificación láctica. Es la base de la fabricación de numerosos quesos.

En la práctica industrial, la obtención de un gel mixto puede llevarse a cabo según dos técnicas: la adición de cuajo a una leche ácida o la acidificación de un gel enzimático. (Veisseyre, 1980; Scott, 1981; Fox, 1987; Dilanjan, 1984; Ernstrom y Wong, 1974).

1.4.4. Operaciones de poscoagulación

1.4.4.1. Cortado del coágulo

Cuando se dejan en reposo, los geles dejan escapar espontáneamente el lactosuero como consecuencia de la contracción de la red inicial; este fenómeno se denomina sinéresis.

El gel láctico deja escapar rápida y espontáneamente una cantidad importante de lactosuero. La contracción de las micelas, es decir, la sinéresis propiamente dicha, es débil o nula. Por lo contrario el gel enzimático, poco después de su formación, es casi impermeable. No hay deshidratación rápida de las micelas pero, con el tiempo, se contraen y expulsan el lactosuero tanto más fácilmente en cuanto se realice un troceado apropiado del gel que multiplica las vías de eliminación.

El coágulo está listo para ser cortado o lirado después de un período de 25 min a 2 hs desde la coagulación. Las condiciones en que se efectúa influyen sobre el resultado obtenido. Según el tipo de queso, el lirado es más o menos intenso: simple troceado en los quesos de pasta blanda, corte en pequeños cubos en los de pasta firme. La superficie de exudación aumenta linealmente con la intensidad del cortado, así, en el primer caso se obtendrán cuajadas menos desueradas y por lo tanto, más húmedas que en el segundo.

Sin embargo, otros parámetros imponen límites al troceado. Así cuando es muy intenso, las partículas de coágulo resultantes son muy firmes y retienen una cantidad de suero más elevada que la prevista principalmente durante el prensado de la cuajada. Por lo tanto existe para cada tipo de queso una dimensión óptima de los granos que permite un desuerado correcto. (Veisseyre, 1980; Scott, 1981).

1.4.4.2. Agitación

A menudo el troceado va seguido de la agitación de los granos, más o menos acentuada y prolongada según los casos. La operación tiene por efecto acentuar y acelerar el desuerado renovando continuamente la superficie de exudación de suero e impidiendo la adherencia de los granos.

La agitación debe realizarse con cuidado para impedir la ruptura de la cuajada y para que los granos conserven su integridad. (Veisseyre, 1980; Scott, 1981).

1.4.4.3. Cocción

La cocción de la cuajada causa la contracción de la malla proteica y facilita la expulsión del suero.

La temperatura constituye un factor de desuerado que debe utilizarse juiciosamente en cada sistema de fabricación. En la elaboración de queso Cheddar se trabaja a una temperatura próxima a 38 - 39°C, sin sobrepasarla para no retrasar el posterior desarrollo de las levaduras lácticas mesófilas. En los procedimientos de fabricación acelerada se reemplazan éstas por levaduras termófilas para poder realizar el desuerado rápidamente a 43 - 45°C. En la fabricación del Gruyere, se utiliza una temperatura de 52 - 55°C, con la cual los granos pierden su carácter viscoso y adhesivo y el suero es expulsado más fácilmente.

La elevación de temperatura debe ser progresiva, sobre todo al comienzo del calentamiento. Cuando el aumento de temperatura es brusco, se observa la formación, en la superficie de los granos, de una capa impermeable, mientras que la parte central permanece húmeda y el desuerado se detiene.

Por otra parte, si la temperatura de cocción es demasiado elevada, la estructura proteica puede resultar modificada e incluso algunas proteínas pueden desnaturalizarse. Del mismo modo,

el desarrollo posterior de algunos microorganismos indispensables puede verse comprometido. (Veisseyre, 1980; Scott, 1981).

1.4.4.4. Lavado

En algunos procesos de fabricación de quesos de pasta prensada se efectúa un lavado de los granos tras el cortado y la eliminación del suero exudado. Este lavado se realiza con agua o salmuera poco concentrada. La operación tiene como objetivo diluir los componentes solubles del coágulo, fundamentalmente la capa de suero que cubre la superficie de los granos de cuajada. Además cuando estos se mantienen durante un tiempo suficiente en contacto con el líquido de lavado, se extrae, por difusión, una fracción del suero retenida en el interior de los granos. (Veisseyre, 1980).

1.4.4.5. Moldeado

El objetivo fundamental del moldeado es lograr que se suelden los granos de cuajada formando grandes piezas cuyas dimensiones dependen de la variedad del queso a elaborar.

Su forma y las dimensiones condicionan la superficie relativa del queso, o sea, la relación entre la superficie total y el volumen o masa. Los quesos de gran superficie se salan más rápido, se secan antes y están más expuestos a la influencia del medio ambiente.

Los quesos pueden adquirir su forma introduciendo la cuajada en moldes individuales o moldeando conjuntamente toda la cuajada que es cortada luego en piezas del tamaño adecuado. (Dilanjan, 1984).

1.4.4.6. Prensado

El prensado tiene por finalidad endurecer la masa de cuajada y eliminar el suero sobrante. La cuajada se prensa por la presión que ejerce su propia masa (autoprensado) y por la aplicación de una fuerza externa.

El autoprensado se utiliza en la elaboración de quesos de alto contenido de agua (blandos y semiblandos). En el curso de este proceso la presión es más elevada cuanto más abajo se halle situado el punto de la masa de cuajada considerado, de donde resulta necesario, para que las piezas adquieran una consistencia y una distribución de agua uniforme, voltearlas a intervalos de 15 a 30 min al principio y a intervalos más largos más adelante.

Existen dispositivos para el prensado del queso que funcionan aplicando una fuerza externa. La operación puede realizarse a presión constante desde el comienzo hasta el fin, o a presión gradualmente creciente.

Las condiciones de esta operación, como presión a aplicar, desarrollo, duración, etc, dependen del tipo de queso elaborado. (Veisseyre, 1980; Dilanjan, 1984).

1.4.4.7. Salado

El salado, cuyo papel fundamental es regular el desarrollo microbiano, contribuye también al desuerado de la cuajada; se realiza en seco o por inmersión en un baño de salmuera. En el primer caso el cloruro de sodio absorbe cierta cantidad de agua procedente no sólo de las capas superficiales sino también del interior del queso. Se aplica tanto en los quesos ya moldeados como a los que no han entrado aún en los moldes, es decir, al estado de cuajada, la sal se extiende formando una capa sobre la superficie o se incorpora en una cantidad prefijada a la masa. A lo largo del salado (que puede durar sólo 24 hs o varios meses

según el tipo de queso), a fin que la sal penetre uniformemente por toda la pasta, los quesos se voltean a diario.

El salado en salmuera es una técnica en auge por sus ventajas obvias: salado más regular, economía de mano de obra y organización más racional del trabajo. Se sumergen los quesos moldeados y prensados en un recipiente con una disolución salina, con una concentración entre 16 y 24% dependiendo del tipo de queso.

El salado juega un rol importante en los procesos que se desarrollan en la corteza y en el interior de los quesos. Cuando se sala en seco, la sal pasa poco a poco desde la superficie al interior, al tiempo que se expulsa el suero. La sal absorbida controla y regula los procesos microbiológicos y fisicoquímicos. También comienza a formarse la corteza, produciéndose en toda la periferia del queso un intenso desuerado. (Veisseyre, 1980; Dilanjan, 1984).

1.5. MADURACION

A pesar que algunas variedades de quesos son consumidas frescas, la mayoría no están listas para el consumo al final de la manufactura, ya que necesitan un período de maduración, el cual varía desde 4 semanas hasta más de 2 años.

La maduración o afinado, es un proceso bioquímico muy complejo donde se establecen diversos equilibrios y se entrecruzan múltiples rutas de degradación y síntesis.

La composición del queso sufre cambios y se van acumulando paulatinamente diversas sustancias que contribuyen al aroma como péptidos, cetonas, aminoácidos y ácidos grasos libres, etc, que surgen como consecuencia de las transformaciones metabólicas sufridas por los compuestos mayoritarios en la leche: lactosa, triglicéridos y caseínas. (Juarez y col., 1983; Fox, 1987).

1.5.1. Agentes de la maduración

Los agentes que actúan durante la maduración son numerosos y comprenden fundamentalmente: las enzimas presentes en la leche, el cuajo y las enzimas segregadas por los fermentos lácticos.

Enzimas presentes en la leche

Entre las enzimas presente en la leche se encuentra la plasmina que es una proteasa termoresistente. Su pH óptimo que es 8 - 8.5, está por encima del pH de la cuajada (5 - 5.5), ésto, ligado a su baja concentración, hace que no sea demasiado importante en el afinado, sobre todo si se compara su acción con la correspondiente a las proteasas microbianas.

El papel de las lipasas originarias de la leche puede ser más importante. Entre ellas la lipasa plasmática, con una actividad máxima a pH 8.5 - 9, pero que todavía es alta a pH ácido (5 - 6), es la más importante. Su escasa termoresistencia, explica que sólo pueda intervenir en quesos de leche cruda ya que se inactiva durante la pasteurización.

Otra enzima que puede intervenir en la maduración es la fosfatasa ácida debido a que su acción desfosforilante hace a la caseína más sensible a la acción de las proteasas.

En resumen, en la maduración el papel de las enzimas presentes en la leche es limitado, pero puede ser de mayor importancia en los quesos fabricados a partir de leche cruda. (Veisseyre, 1980).

Enzimas coagulantes

El cuajo es un conjunto de enzimas proteolíticas que no sólo intervienen en la formación del coágulo, sino también en su evolución posterior. El cuajo de ternero, que es una mezcla de renina y pepsina bovina, ha sido el agente coagulante más usado en la industria quesera. Durante los últimos tiempos se han usado en remplazo o junto con el cuajo de ternero otras enzimas tales como

pepsina bovina o porcina y enzimas microbianas. La mayoría de estas enzimas escapan con el suero pero algunas permanecen en la cuajada, dependiendo del contenido de humedad y el pH del queso.

El rango de pH (5 - 6), en que el cuajo es muy estable, sumado a que el pH óptimo de actividad proteolítica sobre la caseína es 3.8 - 4 y a la acción favorecedora del cloruro de sodio a una concentración próxima a la de la cuajada (3%), hace pensar en la intervención del cuajo en el afinado. Su participación en el fenómeno global de la maduración varía con el tipo de queso ya que en ellos varía la cantidad de cuajo agregado y retenido en la cuajada.

No está aún totalmente dilucidado en la literatura el modo de intervención del cuajo en el desarrollo del sabor y el aroma del queso. Se sabe que estos caracteres están ligados a la formación de ciertos aminoácidos, oligopéptidos y aminas. Por lo tanto, el cuajo no podría tener una influencia directa ya que la acción del cuajo no produce estos compuestos, aunque se sabe que algunos polipéptidos por él liberados pueden ser de sabor amargo. Por otra parte su acción libera grandes moléculas nitrogenadas que son utilizadas por las enzimas microbianas, que las transforman en moléculas de bajo peso molecular, que son productoras de sabor y aroma.

En cuanto a la pepsina bovina tiene una especificidad similar a la renina pero es menos proteolítica. Estudios realizados han demostrado que quesos fabricados con pepsina bovina contienen menos nitrógeno soluble que quesos hechos con cuajo de ternero.

Enzimas coagulantes provenientes de hongos tienen mayor actividad proteolítica, son menos específicas que la renina y menos dependientes del pH.

En conclusión, las enzimas coagulantes son un factor importante del afinado. Inician la proteólisis cuando el sustrato es aún ácido y preparan la acción de las enzimas provenientes de los fermentos lácticos. (Veisseyre, 1980; Grappin y col., 1985; Lawrence y col., 1987).

Flora microbiana

La cuajada contiene una población microbiana de numerosas especies. Los microorganismos aparecen, se multiplican y mueren modificando más o menos profundamente el sustrato, no solamente porque degradan y consumen algunos componentes, sino también porque vierten al medio secreciones celulares.

Los aspectos microbiológicos del afinado del queso son muy complejos ya que existe una gran variedad de microorganismos implicados y de condiciones en que se desarrollan, y por el hecho de que cada queso tiene una microflora específica.

La población microbiana de un queso es extremadamente densa, ya que sobrepasa a menudo los 10^9 microorganismos por gramo.

Los estreptococos lácticos representan habitualmente la flora dominante al cominzo de la maduración. En los quesos de pasta blanda y firme están presentes fundamentalmente Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris y Streptococcus diacetillactis, mientras que en los quesos de pasta cocida se encuentra el Streptococcus thermophilus. La principal función de estas bacterias heterofermentativas es transformar la lactosa en ácido láctico.

Otros microorganismos que son parte de la flora habitual de todos los quesos son los lactobacilos. Mientras que las especies mesófilas como Lactobacillus casei y Lactobacillus plantarum, proceden de la contaminación de la leche y de la cuajada, las especies termófilas como Lactobacillus lactis, Lactobacillus helveticus y Lactobacillus bulgaricus, son aportados por los fermentos lácticos y contribuyen a la acidificación de la cuajada.

En todos los quesos las bacterias ácido-lácticas siguen multiplicándose mientras queda lactosa por fermentar, y comienzan a declinar cuando ésta se ha agotado. Esta es la razón de que se encuentren en mayor número en los quesos menos desuerados que son por lo tanto más ricos en lactosa. (Veisseyre, 1980; Dilanjan, 1984).

1.5.2. Modo de acción de los microorganismos

Pueden distinguirse dos grandes modos de acción de los microorganismos en el curso de la maduración que son la excreción al medio de enzimas extracelulares o la liberación por autólisis, a su muerte, de enzimas intracelulares.

Entre los sistemas enzimáticos puestos en evidencia y que parecen presentar un mayor interés en la maduración figuran las proteasas, las lipasas y en menor grado, las decarboxilasas, deaminasas, deshidrogenasas y fosfatasas.

Aunque una enzima sólo es responsable de la acción en una única reacción, muchas enzimas están involucradas en los grandes cambios, los cuales ocurren cuando un componente en la cuajada es dividido en varios compuestos, que a su vez sufren la acción de las enzimas dando compuestos de menor peso molecular. (Veisseyre, 1980; Scott, 1981).

1.5.3. Condiciones de la maduración

Los factores que regulan la maduración, son los mismos que determinan la actividad de los microorganismos presentes en la cuajada, ya que de ellos y su actividad depende fundamentalmente el afinado del queso. Entre estos factores se encuentran: la aireación, la humedad, la temperatura, el contenido de sal, el pH y la presencia de sustancias inhibidoras.

La aireación es importante entre los quesos que contienen hongos ya que estos necesitan oxígeno para desarrollarse.

El agua en el queso se encuentra en tres o más estados: la ligada a la estructura de un componente (proteína); la unida libremente por fuerzas atractivas a partículas de la cuajada, incluyendo la grasa (humedad higroscópica) y la libre que contiene las sales disueltas. Los microorganismos para poder desarrollarse necesitan de la presencia de agua libre, que es regulada por la

el contenido de sal, contribuyendo así a seleccionar la microflora. Algunos microorganismos no son muy exigentes y sus necesidades se satisfacen con una actividad de agua baja. Por tanto pueden desarrollarse en medios ricos en sal, es decir con presión osmótica elevada. Otros exigen una actividad de agua elevada y no proliferan cuando ésta es baja.

La temperatura controla no sólo el desarrollo de los microorganismos sino también la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la cuajada durante su maduración.

La temperatura óptima para el desarrollo de los microorganismos, para la producción de enzimas y para la actividad de éstos no es generalmente la misma, por lo tanto hay que elegir una condición que produzca el queso con los mejores resultados. En general se trata de madurar lentamente al principio para asegurarse un máximo desarrollo de los caracteres organolépticos, no obstante, las técnicas que tratan de acelerar el afinado mediante la elevación de la temperatura deben utilizarse con prudencia.

Otro factor que gobierna la multiplicación de microorganismos y sus actividades bioquímicas es el pH. Los mohos y levaduras pueden desarrollarse en medios ácidos (a pH 4.5 e inferiores). Las bacterias prefieren los medios neutros, siendo generalmente inhibidas por los pH inferiores a 5, aunque los lactobacilos soportan pH muy bajos, del orden de 3.5.

Las enzimas pueden catalizar una reacción bajo diferentes condiciones del medio, pero el pH y la temperatura son probablemente los dos factores más importantes que tienen efecto sobre su actividad.

Cada enzima tiene un pH óptimo, en el cual su actividad es máxima; existen algunas enzimas que tienen dos regiones de pH con alta actividad pero los productos finales producidos pueden diferir en cada caso.

Un último factor a tener en cuenta, es la presencia de sustancias inhibidoras, como pueden ser antibióticos presentes en la

tancias inhibidoras, como pueden ser antibióticos presentes en la leche por tratamientos realizados en las ubres del animal, o producidas por microorganismos que se desarrollaron en la leche utilizada para la fabricación del queso. Estas sustancias inhibidoras pueden impedir el desarrollo de las bacterias y algunas veces las reacciones enzimáticas. La selección de la leche, el control de la flora bacteriana por un efectivo tratamiento térmico y la selección de fermentos adecuados (starters), reducen el riesgo de la incorporación de sustancias inhibidoras en la cuajada. (Veisseyre, 1980; Scott, 1981).

1.5.4. Glicólisis

La transformación de la lactosa en ácido láctico es realizada fundamentalmente por las bacterias lácticas. Esta fermentación comienza en las primeras etapas de la elaboración del queso; durante la preparación previa que sufre la leche, la lactosa es fermentada bajo la acción de la microflora presente; la fermentación de la lactosa se prolonga a lo largo de todo el proceso de manufactura. El queso fresco contiene ya una cantidad bastante alta de ácido láctico que sigue aumentando durante las primeras etapas de la maduración hasta que se agota la lactosa; esto suele ocurrir en todos los quesos en unas dos semanas.

La fermentación láctica juega un papel esencial durante el afinado: impide la multiplicación de los microorganismos que generan putrefacción, los cuales invadirían rápidamente la cuajada si el pH se mantuviera demasiado elevado y participa también en el desarrollo del sabor y aroma ya que no sólo da origen a la formación de ácido láctico por un proceso denominado homofermentativo, sino también de otros productos secundarios como los ácidos acético, succínico y fórmico, el anhídrido carbónico, alcohol etílico, acetona, diacetilo y otros productos volátiles por un proceso heterofermentativo. El tipo de fermentación y los

compuestos producidos dependen de los microorganismos presentes en el queso.

Por otra parte, el ácido láctico procedente de la degradación de la lactosa generalmente no se acumula en la cuajada, sino que sufre transformaciones de naturaleza diversa, generando sustancias que contribuyen al flavor del queso terminado.

El ácido láctico no es el único componente que sufre transformaciones en el queso, también las experimentan el ácido cítrico procedente de la leche, cuya fermentación da origen al diacetilo (sustancia muy aromática) y la acetoina. (Veisseyre, 1980; Ernstron y Wong, 1974; Dilanjan, 1984).

1.5.5. Lipólisis

Mientras que en un queso madurado la glicólisis es siempre pronunciada, la lipólisis por el contrario sólo afecta a una pequeña proporción de la grasa. Sin embargo, los ácidos grasos liberados y sus productos de transformación, aunque aparecen en pequeñas cantidades, influyen decisivamente sobre el perfil organoléptico del queso.

El espectro de los ácidos grasos liberados varía con el tipo de queso, así el Emmental se caracteriza por una elevada proporción de ácido acético y propiónico y el Munster por su alto contenido de ácidos grasos de bajo peso molecular como acético, propiónico, butírico y caproico. Un caso especial es el de los quesos de pasta azul que son inoculados con mohos del género *Penicillium*, que son fuertemente proteolíticos y lipolíticos y su acción en los quesos supera la de los fermentos. El aroma que se aprecia en estos quesos es fundamentalmente de los ácidos grasos y las metilcetonas producidos por la acción del *Penicillium roqueforti*.

Las deshidrogenasas, segregadas por los mohos, actúan sobre los ácidos grasos saturados y pueden conducir a la formación de

ácidos β -cetónicos susceptibles de decarboxilarse para dar metilcetonas, que son las responsables del sabor picante de estos quesos de pasta azul. (Veisseyre, 1980; Law, 1981; Juárez y col., 1983).

1.5.6. Proteólisis

Las proteínas y especialmente la caseína, constituyen los compuestos que juegan el papel más importante en la maduración de los quesos. Una combinación de enzimas actúa sobre las proteínas, rompiendo la estructura y produciendo cambios en cuerpo y textura. Además proveen péptidos como sustratos para las principales enzimas intracelulares de la microflora del queso, que producen aminoácidos, los que contribuyen al flavor. (Law, 1987; Aston y col., 1983).

Durante la maduración, la paracaseína comienza a degradarse produciendo compuestos nitrogenados más simples; que dan origen a péptidos y luego a aminoácidos.

Simultáneamente con la producción de aminoácidos tienen lugar procesos de desaminación, por los que éstos se transforman en ácidos y amoníaco, procesos que afectan también a proteínas y peptonas. También sufren decarboxilaciones que producen anhídrico carbónico y otros productos. (Dilanjan, 1984).

1.5.7. Vinculación entre la maduración y el desarrollo de las características organolépticas del queso

El desarrollo de los caracteres organolépticos del queso está ligado a las modificaciones sufridas por los componentes de la cuajada en el curso de la maduración. Sin embargo, dado que estas modificaciones son numerosas y muy complejas, resulta difícil establecer una relación precisa entre alguna de ellas y una carac-

terística organoléptica determinada.

El aroma del queso procede principalmente de los componentes volátiles surgidos de los procesos de maduración de la cuajada. Estos compuestos incluyen ésteres, ácidos grasos, aldehídos, cetonas, alcoholes, aminas, sulfuro de hidrógeno y amoníaco. Los aldehídos, cetonas y alcoholes son probablemente los más importantes.

La degradación de los aminoácidos que contienen sulfuros (cistina, cisteína y metionina) da como resultado la formación de mercaptanos, ácido acético, ácido fórmico, amoníaco, dióxido de carbono e hidrógeno.

Las reacciones producidas durante la fermentación del ácido cítrico forman importantes compuestos aromáticos como ácido acetoláctico, el cual produce acetilmetilcarbinol y diacetilo (Scott, 1981).

Los aminoácidos están siempre en cantidades elevadas, crecientes con la prolongación de la maduración. Se ha demostrado su papel dominante en los quesos de pasta firme, particularmente en el Cheddar (Aston y col., 1983).

En resumen, el soporte químico del sabor del queso no es un componente ni un grupo de componentes. Un tipo de queso debe probablemente sus caracteres organolépticos a la presencia de una mezcla compleja de componentes cuyo equilibrio juega un papel fundamental. El aroma de un queso se distingue del de otro, más que por el número de componentes aromáticos, por las proporciones relativas en que se encuentran. (Veisseyre, 1980).

Otra de las características importantes que determinan la identidad y calidad del queso es la textura. Sus variaciones pueden reflejar los cambios estructurales ocurridos en dicho alimento durante su maduración. Entre los factores que pueden afectarla están la humedad, el pH y la proteólisis de la caseína. (de Jong, 1976; Creamer y Olson, 1982).

Este aspecto ha sido poco desarrollado en la literatura y muestra gran importancia para la industria quesera.

1.6. ENVASADO

1.6.1. Maduración tradicional

En la maduración tradicional los quesos se colocan sin envasar en locales de afinado o cavas, que precisan ser climatizados. Durante mucho tiempo los medios empleados para obtener esta climatización fueron puramente naturales. La instalación de locales de afinado disponiendo de todos los recursos de la industria frigorífica moderna constituye un inmenso progreso. En dichos locales es necesario controlar tanto la temperatura como la humedad.

Durante la maduración se lleva a cabo en los quesos la evaporación superficial del agua lo que produce la formación de la corteza en los mismos. Asimismo, suele ocurrir que sobre la superficie de los quesos se desarrollen hongos, por lo que se hace necesario el rascado o cepillado de los mismos para su eliminación o en algunos casos el lavado.

Una vez terminado el período de maduración los quesos son recubiertos con pastas de revestimiento directamente aplicadas a la superficie del queso como mezclas compuestas por ceras poliméricas (parafinas, ceras, etc.) o son envasados en láminas moldeables compuestas por materiales plásticos (Scott, 1981; Gudkow y col., 1980).

1.6.2. Maduración en película plástica

En los últimos años, se han adoptado técnicas nuevas en la elaboración del queso que incluyen el envasado al vacío y la maduración en película. (Hakkaraien, 1978; Belfiore, 1980).

El desarrollo de la técnica del afinado en película plástica produce quesos sin corteza ya que la maduración se realiza en condiciones tales que no permitan la evaporación superficial del

agua. La maduración se efectúa en materiales plásticos con características físicas y mecánicas específicas de acuerdo a los objetivos requeridos.

Los procesos bioquímicos en este tipo de afinado son similares a los que ocurren en la maduración tradicional, pero el queso sin corteza presenta un tenor de extracto seco más homogéneo.

Este tipo de proceso es compatible con los quesos donde la corteza no juega un rol esencial en el afinado como por ejemplo en quesos:

a) de pasta prensada cocida: Emmental o similares

b) de pasta prensada no cocida: Edam, Gouda, Cheddar, Saint Paulin o similares.

Todos estos quesos tienen la similitud de no presentar en la superficie microorganismos productores de enzimas responsables de la maduración con formación de compuestos esenciales para el flavor. (Fradin, 1984).

1.6.2.1. Características de los materiales plásticos utilizados en el envasado

Resistencia al agua:

El queso es un producto con alto contenido de agua (38 - 56%). La película no debe ser atacada químicamente por el agua o el suero de la fabricación. Debe mantener su resistencia mecánica en presencia de agua.

Permeabilidad al vapor de agua:

Determina la pérdida de peso durante el almacenamiento. Esta pérdida de peso tiene consecuencias económicas y también a nivel de la calidad organoléptica del queso.

Es importante tener en cuenta que durante la maduración de quesos en envolturas protectoras tiene lugar de otra manera la

distribución del contenido de agua. En primer lugar el agua se distribuye uniformemente en las capas internas y externas del queso. La humedad no se reduce casi nada durante la maduración y almacenado. En consecuencia, el queso debe fabricarse de manera que su contenido en agua, antes de introducirlo en el envase sea algo menor que en los quesos preparados por el procedimiento tradicional.

Junto con la distribución modificada del agua, varía también la concentración de sal en las diversas partes del queso. Su contenido también es más uniforme.

Permeabilidad a gases:

La maduración sin corteza solicita del material de envasado, prestaciones muy difíciles. Debe prevenir al queso del contacto con el oxígeno para evitar el desarrollo de mohos; una permeabilidad del orden de $2000 \text{ cm}^3 / \text{cm}^2 \text{ 24 hs atm a } 20^\circ\text{C}$ provoca después de un mes, la aparición de hongos sobre la superficie del queso. Pero también debe permitir al dióxido de carbono y otros gases innecesarios pasar a través de la película para evitar así la hinchazón de la bolsa.

Las propiedades de barrera de los materiales de envasado también protegen al queso de los aromas de otros quesos almacenados o distribuidos con él.

Permeabilidad a las grasas:

La película no debe absorber la materia grasa que pueda exudar el queso, particularmente, porque podría modificar sus propiedades físicas y provocar así el deterioro del queso. (Fradin, 1984).

Inocuidad:

Las envolturas no deben transferir al queso ninguna sustancia extraña que implique daño para la salud o influya sobre aroma y sabor.

Condiciones mecánicas:

Entre las condiciones mecánicas se distinguen las siguientes: dilatabilidad, resistencia a la rotura y a los desgarros y en las hojas compuestas, la adherencia entre las distintas capas. La resistencia a los golpes, flexiones y roces juegan un papel importante en cuanto a lo referente a requisitos mecánicos exigidos para el transporte y almacenamiento.

Propiedades térmicas:

El comportamiento de los plásticos es un factor importante, ya que de él depende el cierre de los envases por soldadura o sellado.

Algunas películas como las de polietileno, se sellan sin necesidad de ningún adhesivo, otros tales como la celulosa regenerada, poliéster o saran, deben ser recubiertas con una capa de polímeros especiales o una laca o barniz, antes de poder ser termoselladas.

La respuesta al calor también influye en la aptitud para constituir determinados tipos de envolturas, como por ejemplo los envases contráctiles.

1.6.2.2. Beneficios de la maduración en película**Reducción de los costos de mano de obra:**

El queso se protege contra el crecimiento de microorganismos indeseables y contra la formación de corteza durante la maduración y almacenaje. Se eliminan las operaciones de cepillado y lavado, reduciendo así los costos y la mano de obra de forma considerable.

Reducción de las mermas en el peso:

Cada vez que se raspan o cepillan los mohos y microorganismos innecesarios de la superficie del queso madurado en el proce-

so tradicional, el fabricante pierde una parte significativa de su producto vendible.

Eliminación de los tratamientos de corteza:

La maduración en la bolsa elimina la necesidad de cera protectora, recubrimiento de parafina y tratamientos antibióticos. Al tiempo que ahorra mano de obra, permite a los fabricantes cumplir con los dispositivos cada vez más severos, relativos a los tratamientos antimoho.

Beneficios energéticos:

Proporciona una atmósfera controlada para el proceso de maduración, la bolsa elimina la necesidad de controles de humedad conflictivos y costosos.

Mayor conservación:

Aún después de que el ciclo de maduración haya terminado, el vacío cuidadosamente controlado, asegura una mayor conservación en el almacenaje, distribución y venta del producto.

Versatilidad en la fabricación:

El envasado del queso puede adecuarse para cumplir con los requerimientos de cada tipo de queso. Del mismo modo, cuando un queso como el Stilton o Manchego deben ser madurados en forma tradicional para conseguir su atractivo visual, pueden ser envasados después de la maduración y permitir así un manejo y distribución protegidos.

1.7. CONSIDERACIONES FINALES

La información disponible en la literatura acerca del proceso de maduración en película es escasa. Considerando que en nues-

tro país más del 80% de la producción corresponde a quesos de pasta blanda y semidura, siendo el Port Salut y el Tybo Argentinos ejemplos típicos de estos quesos y que en la mayoría de los casos maduran en películas plásticas resulta de gran utilidad estudiar dicho proceso. La industria productora se ha manifestado interesada en este análisis proveyendo las muestras elaboradas en condiciones controladas. Teniendo en cuenta que el vacío cuidadosamente controlado, asegura un mayor tiempo de conservación, los quesos así elaborados podrían ser aptos para exportar.

Por lo tanto, resulta necesario conocer el comportamiento reológico de los quesos, analizando las modificaciones producidas en la textura de los mismos, así como también conocer los cambios que se producen en las proteínas a lo largo de la maduración, ya que son los componentes mayoritarios del queso y determinan su estructura interna.

1.8. OBJETIVOS

El presente trabajo de tesis tiene por objetivo general analizar el proceso de maduración en dos tipos de quesos envasados en películas plásticas flexibles (Port Salut Argentino y Tybo Argentino) e implica el cumplimiento de las siguientes metas parciales:

- Caracterizar las películas de envasado implementando un método de medición de la permeabilidad a gases de las películas que se utilizan en la maduración de quesos en nuestro país y construir la celda apropiada para su cuantificación.

- Evaluar las modificaciones en la textura a través de parámetros representativos tales como dureza, cohesividad, adhesividad, módulo de deformabilidad y deformación relativa en la ruptura, los cuales se estudiarán a lo largo de la maduración.

- Analizar el comportamiento viscoelástico de los quesos por medio de ensayos de relajación, estableciendo el modelo mecánico que mejor represente la respuesta del producto a la aplicación de una acción externa.

- Analizar las transformaciones sufridas por las cadenas proteicas determinando la proporción de nitrógeno soluble y nitrógeno no proteico a lo largo de la maduración.

- Profundizar el estudio de la proteólisis que tiene lugar en el queso durante la maduración identificando y cuantificando las

fracciones residuales de α y β caseínas, mediante electroforesis en geles de poliacrilamida, a efectos de vincularlas con los cambios producidos en la textura.

- Relacionar la proteólisis producida durante la maduración con los cambios de textura analizados.

- Por último se tratará de estimar en base a los datos obtenidos tiempos mínimos de maduración.

CAPITULO 2

PERMEABILIDAD DE PELICULAS PLASTICAS FLEXIBLES

2.1. INTRODUCCION

Entre las propiedades que deben presentar los materiales plásticos utilizados para envasar alimentos, resulta de particular importancia la permeabilidad a gases. La determinación de sus valores es indispensable para la elección de la película plástica a utilizar.

Naturalmente, la permeabilidad a los gases de un material plástico sólo tiene significación cuando se trata de recipientes cerrados o de envases en los cuales no puede producirse un intercambio de gases con la atmósfera exterior por aberturas libres. Los envases deben proteger el contenido de las influencias perjudiciales del medio ambiente, por ejemplo ensuciamiento y contaminación con microorganismos, oxígeno del aire y vapor de agua. Pero a veces, también se requiere una cierta permeabilidad a los gases, para evitar por ejemplo que el envase se hinche o hasta rompa. Sin embargo, por lo general, se requieren envases que sean en lo posible, poco permeables al vapor de agua, al oxígeno, al dióxido de carbono y a veces también al nitrógeno.

2.1.1. Teoría de la permeabilidad a los gases de los materiales sintéticos.

La transmisión de un gas o vapor a través de un film plástico es normalmente, en ausencia de rajaduras, poros, etc., un proceso de difusión activada. Este mecanismo puede ser descrito como la disolución sobre la superficie de la película, difusión a través de la misma bajo un gradiente de concentraciones, y evaporación desde la otra superficie que corresponde al lado de baja concentración o presión (Rogers y col., 1956).

En el caso particular del transporte de un gas en una dirección y bajo condiciones de estado estacionario se puede aplicar la primera ley de Fick (Karel, 1975). En condiciones unidi-

reccionales de difusión pura del gas A (en ausencia del término convectivo) resulta:

$$N_A = - D \quad dc_A/dx \quad (1)$$

donde: N_A es el flujo molar del gas A en moles/seg cm^2

D es el coeficiente de difusión para el gas en la membrana (cm^2/seg)

c_A es la concentración del gas A en la membrana (moles/ cm^3)

x es la distancia medida sobre la membrana en dirección del flujo (cm)

Si se admite un perfil lineal de la presión parcial del gas (p) a través del espesor de la lámina (e), puede reemplazarse dc_A/dx en la ecuación (1) por $(c_1 - c_2)/e$, donde c_1 y c_2 representan la concentración del gas a ambos lados de la película. Resulta entonces:

$$N_A = D \quad \frac{c_1 - c_2}{e} \quad (2)$$

Considerando que la disolución del gas en el material sintético obedece la ley de Henry ($c = S p$), la ecuación (2) queda:

$$N_A = D S \quad \frac{p_1 - p_2}{e} \quad (3)$$

donde S es la solubilidad (moles/ cm^3 atm)

p es la presión parcial del gas (atm)

Teniendo en cuenta que el producto $D S$ es conocido como el coeficiente de permeabilidad (\mathcal{P}) la ecuación resulta:

$$N_A = \mathcal{P} \frac{P_1 - P_2}{e} \quad (4)$$

La constante de permeabilidad puede definirse como:

$$\mathcal{P} = \frac{(\text{moles de gas}) (\text{espesor})}{(\text{area}) (\text{tiempo}) (\text{diferencia de presión})}$$

No existe una convención simple respecto de las unidades usadas para la constante de permeabilidad.

2.1.2. Medición de la permeabilidad gaseosa

A pesar de la gran cantidad de procedimientos para medir permeabilidades gaseosas en películas, estos pueden dividirse en dos grupos básicamente diferentes:

Método A: A ambos lados de la película se encuentra sólo el gas de medición puro, pero como para el transporte del gas es necesario una diferencia de presiones parciales, esto significa al mismo tiempo una diferencia de presiones totales, de modo que la película debe ser soportada mecánicamente. Se determina la cantidad de gas que ha difundido hacia el lado de la presión más baja mediante una medición del aumento de presión, a volumen constante (Rogers y col., 1956) o mediante la medición del aumento de volumen, a presión constante (Becker, 1964).

Es de destacar que estos procedimientos son empleados en su mayoría, por su sencillez en cuanto a la medición de la permeabilidad a los gases y están incluidos en los métodos de la American Society for Testing of Materials (1957) y en las normas DIN (1967).

Método B: A ambos lados de la película existe la misma presión

total, pero se encuentran gases diferentes. Con la ayuda de un procedimiento de análisis de gases (por ejemplo cromatografía gaseosa), se sigue la difusión del gas de medición del otro lado de la película, determinando el aumento de concentración del gas permeante (Landrock y Proctor, 1952; Taylor y col., 1960; Karel y col., 1963).

En este trabajo se seleccionó este último método para lo cual se construyó una celda adecuada.

2.1.3. Permeabilidad de películas plásticas a gases puros

Analizando los valores de permeabilidad de diferentes plásticos puede observarse que existe una amplia gama de valores. Así, por ejemplo el cloruro de polivinilideno (Saran) es 100000 veces menos permeable al oxígeno que una silicona. Por otro lado, hay una regularidad en la transmisión de diferentes gases a través del mismo material. Normalmente, el dióxido de carbono permea de 4 a 6 veces más rápido que el oxígeno, y éste 4 a 6 veces más rápido que el nitrógeno.

Gases como el hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono muestran un comportamiento ideal y puede considerarse a la permeabilidad independiente de la concentración. Con respecto a su variación con la temperatura, ésta seguiría una variación de tipo Arrhenius:

$$P = P_0 \exp (-E_p / R T) \quad (5)$$

donde E_p es la energía de activación para permeabilidad (Kcal/mol).

Algunos materiales presentan curvas permeabilidad - tempera-

tura quebradas y tienen una temperatura (o rango de temperaturas) crítica por encima de la cual el material es mucho más permeable. Tales efectos son debidos a cambios de estructura del material (transición del estado cristalino al estado amorfo). En acetato de polivinilo es alrededor de 30°C y en poliestireno alrededor de 80°C.

Los compuestos poliméricos sólidos pueden ser cristalinos, amorfos o semicristalinos. Los materiales utilizados para envases son semicristalinos o amorfos. En los primeros, parte del volumen está ocupado por agregados ordenados de cadenas poliméricas denominados "cristalitos", los cuales son considerados impermeables a gases y vapores. El resto del volumen está ocupado por regiones amorfas, por ejemplo cadenas de polímeros en un estado sustancialmente desordenado. Por encima de la temperatura de transición las cadenas tienen mayor libertad de movimiento y los huecos entre ellas cambian constantemente de forma y localización. Obviamente estos cambios tienen un importante efecto sobre la capacidad de las moléculas para difundir a través del material, especialmente en el caso de moléculas grandes.

Las diferencias en la habilidad de diferentes películas poliméricas para transmitir gases surge en parte, de diferencias en cristalinidad, en parte, de diferencias en movilidad entre distintos tipos de cadenas poliméricas, y finalmente de influencias específicas de grupos funcionales de los polímeros sobre la solubilidad de gases y vapores en la porción amorfa. El contenido cristalino de un polímero tiene primordial importancia sobre la permeabilidad del mismo. Idealmente se espera que dicha propiedad aumente linealmente con el cuadrado de la fracción volumétrica de la porción no cristalina. Esta relación, sin embargo, se cumple solamente para moléculas tan pequeñas como el hidrógeno y se desvía sustancialmente para moléculas muy grandes. Estas desviaciones ocurren porque la presencia de regiones cristalinas ejerce alguna influencia restrictiva sobre la movilidad de las cadenas poliméricas en las regiones no cristalinas, impidiendo particu-

larmente el flujo de grandes moléculas.

La permeabilidad de los polímeros también puede ser modificada por el entrecruzamiento de las cadenas. Este restringe la movilidad de los mismos y reduce la permeabilidad.

El comportamiento ideal (difusión independiente de la concentración, logaritmo de la permeabilidad proporcional a la inversa de la temperatura) de películas plásticas no ocurre para gases polares, especialmente agua y compuestos orgánicos de bajo punto de ebullición, incluyendo solventes y compuestos que componen el flavor (Karel, 1975).

2.1.4. Permeabilidad a gases húmedos

Cuando se exponen películas hidrofílicas a altas humedades, las mismas absorben agua, se hinchan y aumentan su movilidad las cadenas poliméricas. El agua produce un efecto similar al de otros plastificantes o solventes de relativamente baja volatilidad los cuales mejoran la flexibilidad de los polímeros. Tienden a incrementar la permeabilidad a todos los gases; este aumento es particularmente crítico para el transporte de gases a través de materiales que son excelentes barreras a los gases cuando están secos, pero incrementan notablemente la permeabilidad en contacto con atmósferas húmedas. Esto se ha observado por ejemplo en el caso de muchos vapores orgánicos y también en el vapor de agua en películas derivadas de la celulosa (celofán, acetato de celulosa, etc.) y en poliamidas (Becker, 1968; Karel, 1975).

El objetivo del presente capítulo es determinar la permeabilidad gaseosa de películas plásticas flexibles normalmente utilizadas en el mercado local para el envasado y madurado de quesos.

2.2. MATERIALES Y METODOS

2.2.1. Películas plásticas utilizadas

Se usaron las siguientes películas plásticas flexibles:

BK1 (Grace, Argentina): corresponde a una película coextrudada que consta de dos capas externas de EVA (etil - vinil - acetato) y una capa interna de Saran (copolímero de cloruro de vinilo y cloruro de vinilideno). Esta película posee una combinación especial de propiedades como ser baja permeabilidad al vapor de agua y a los gases, gran resistencia química y buenas características ópticas. Las películas utilizadas tenían un espesor de 60 μm .

LOVAC T50 (Envaril, Argentina): corresponde a una película coextrudada que consta de cuatro capas de polietileno. Esta película contraíble es de alta permeabilidad a los gases, buena resistencia mecánica y excelentes propiedades ópticas. El espesor de esta película es de 50 μm .

LOVAC OT60-Q (Envaril, Argentina): corresponde a una película coextrudada que consta de dos capas externas de polietileno y dos internas de polietileno modificado con polivinilalcohol que actúan como barrera. Esta película es contraíble, de baja permeabilidad al vapor de agua y a los gases y resistente a las perforaciones. Las películas utilizadas tenían un espesor de 60 μm .

2.2.2. Medida de la permeabilidad gaseosa

2.2.2.1. Descripción de la celda

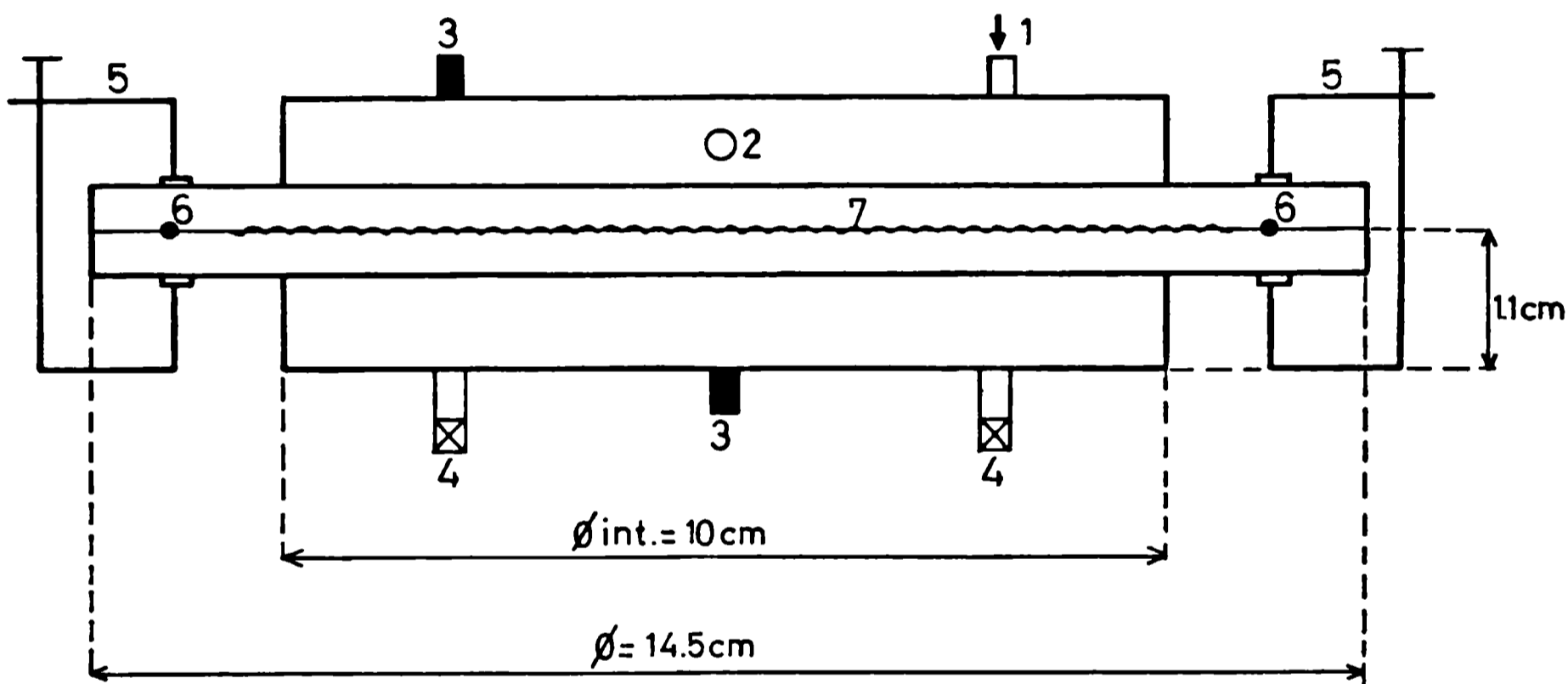
La celda para medición de permeabilidad diseñada para este estudio fue construida en acero inoxidable. La unidad es de forma cilíndrica y está dividida por la película plástica a ensayar en dos compartimientos (Fig. 1). El volumen de cada cámara es de 89.394 cm^3 y el área de transferencia es de 78.54 cm^2 . El compartimiento superior presenta dos conexiones que permiten la entrada y salida de gases. Tanto la cámara superior como la inferior presentan dispositivos que permiten la toma de muestra gaseosa por medio de una jeringa. Los dos compartimientos son cerrados por medio de prensas distribuidas adecuadamente en todo el contorno de la celda. Para asegurar un buen cierre y evitar las posibles fugas de gas se colocaba una arandela de goma entre las dos superficies en contacto de los dos compartimientos.

2.2.2.2. Método de medida por incremento de concentración

La medida de la permeabilidad por el método de incremento de concentración (isostático) está basado en la medición de la cantidad de gas que difunde a través de una muestra del material a ensayar bajo condiciones en las cuales la diferencia de presión total a través del material en estudio es cero y la diferencia de presión parcial es aproximadamente igual a 1 atm.

Durante las experiencias la película a ensayar se colocaba en la celda la cual era correctamente cerrada. Una corriente del gas en estudio se hacía circular a través del compartimiento superior de la celda, manteniendo la presión a 1 atm durante toda la experiencia. A intervalos adecuados, muestras de gas eran extraídas del compartimiento de ensayo (inferior) para determi-

nar su composición gaseosa. Paralelamente se controlaba la circulación del gas en la cámara superior, analizando su composición y verificando que fuera 100% del gas de ensayo. Las muestras eran extraídas por medio de una jeringa para gases (Hamilton, Co Inc.) y tenían un volumen de 0.10 ml. Las determinaciones se realizaron a diferentes temperaturas 10°, 20°, 23° y 28°C.



- 1_ entrada de gas
- 2_ salida de gas
- 3_ toma muestra
- 4_ válvulas
- 5_ prensas para el cierre
- 6_ arandela de goma
- 7_ película plástica

Figura 1. Esquema de la celda de permeabilidad.

2.2.3. Planteo de las ecuaciones: Deducción de la ecuación que permite el cálculo de la permeabilidad

Como ya se vió, la ecuación gobernante del proceso de permeación de gases a través de una lámina plana es:

$$N_A a = G = \frac{\mathcal{P} a (p_1 - p_2(t))}{e} \quad (6)$$

donde a = área de transferencia de la celda expresada en cm^2

G = caudal gaseoso expresado en moles/seg

\mathcal{P} = permeabilidad expresada en moles $\text{mm}/\text{cm}^2 \text{ seg atm}$.

Donde 1 era el compartimiento que contenía circulando el gas a ensayar siendo por lo tanto su presión constante a lo largo de toda la experiencia y 2 el compartimiento de medida donde la presión parcial del gas ensayado variaba con el tiempo.

Si ahora se considera el balance macroscópico de materia en el compartimiento 2 resulta:

$$G = V \frac{dc}{dt} \quad (7)$$

donde V = volumen del compartimiento de la celda

Igualando las ecuaciones (6) y (7) se obtiene la siguiente ecuación:

$$V \frac{dc}{dt} = \frac{\mathcal{P} a}{e} (p_1 - p_2(t)) \quad (8)$$

Considerando, si se asume comportamiento ideal, que en los gases se cumple:

$$p_t V = n R T \quad (9)$$

de donde:

$$p_t = (n/V) R T \quad (10)$$

con: p_t = presión total

V = volumen

n = número de moles

R = constante universal de los gases

T = temperatura

se obtiene la siguiente ecuación para la concentración del gas:

$$c = \frac{n}{V} = \frac{p_t}{R T} \quad (11)$$

de donde resulta:

$$dc = \frac{1}{R T} dp_t \quad (12)$$

y la ecuación (8) queda de la forma:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{R T}{V} a \frac{\mathcal{P}}{e} (p_1 - p_2(t)) \quad (13)$$

Si llamamos $P = R T \mathcal{P} / e$ a la permeabilidad expresada en cm^3 del gas/ m^2 día atm para un espesor determinado resulta:

$$\frac{dp}{dt} = P \frac{a}{V} (p_1 - p_2(t)) \quad (14)$$

Integrando la ecuación (14) se obtiene:

$$\int_{p_{20}}^{p_2} \frac{dp_2}{p_1 - p_2} = P \frac{a}{V} \int_0^t dt \quad (15)$$

$$\ln \frac{p_1 - p_{20}}{p_1 - p_2} = P \frac{a}{V} t \quad (16)$$

como $p = p_t$ y donde y es la fracción molar del gas resulta:

$$\ln \frac{y_1 - y_{20}}{y_1 - y_2} = P \frac{a}{V} t \quad (17)$$

donde y_1 = fracción molar del gas en el compartimiento 1

y_{20} = fracción molar del gas en el compartimiento 2 al tiempo 0

y_2 = fracción molar del gas en el compartimiento 2 a cada tiempo

Si en la ecuación (14) se define $P^* = P e = R T \rho$ se obtiene la siguiente ecuación:

$$\frac{dp}{dt} = P^* \frac{a}{V e} (p_1 - p_2(t)) \quad (18)$$

siendo P^* la permeabilidad expresada en $\text{cm}^3 \text{ mil}/\text{m}^2 \text{ día atm}$, mil es una unidad en la que frecuentemente se expresa el espesor y equivale a 0.001 pulgadas.

Procediendo de igual manera con la ecuación (18) se llega a la expresión:

$$\ln \frac{y_1 - y_{20}}{y_1 - y_2} = P^* \frac{a}{V e} t \quad (19)$$

Graficando $\ln [(y_1 - y_{20}) / (y_1 - y_2)]$ versus t , se obtiene una línea recta de ordenada al origen 0 y pendiente igual a $P a/V$ o $P^* a/V e$, de donde conociendo el volumen de la cámara y el área de transferencia, se puede calcular la permeabilidad de la película plástica.

2.2.4. Análisis de las muestras gaseosas

La composición de las muestras de gas fue analizada mediante cromatografía gaseosa. Se utilizó para ello un cromatógrafo gaseoso Shimadzu GC-6A (Japón) equipado con un detector de conductividad térmica. Los componentes gaseosos fueron separados por medio de dos columnas colocadas en serie. La primera de sílica gel a una temperatura de 117°C separaba el dióxido de carbono del oxígeno y el nitrógeno y la segunda un tamiz molecular de 5 Å a una temperatura de 0°C separaba el oxígeno del nitrógeno. Los tiempos de retención obtenidos para los distintos picos fueron 1.36, 2.58 y 8.32 min respectivamente. Para las determinaciones se utilizó hidrógeno como "carrier" con un caudal de 10 ml/min. El cromatógrafo estaba acoplado a un registrador Omega que permitía registrar los picos correspondientes a cada gas. Un cromatograma tipo es mostrado en la Fig. 2. Las concentraciones de los gases de ensayo fueron calculadas a partir de las áreas correspondientes a sus picos, comparándolas con el área obtenida para una muestra de gas patrón (puro).

2.2.5. Regresión de los datos experimentales

La regresión lineal de los datos obtenidos fue realizada por medio del módulo Multivariate General Linear Hypothesis del programa de computadora SYSTAT a partir del cual se obtuvieron las rectas y sus correspondientes coeficientes de correlación.

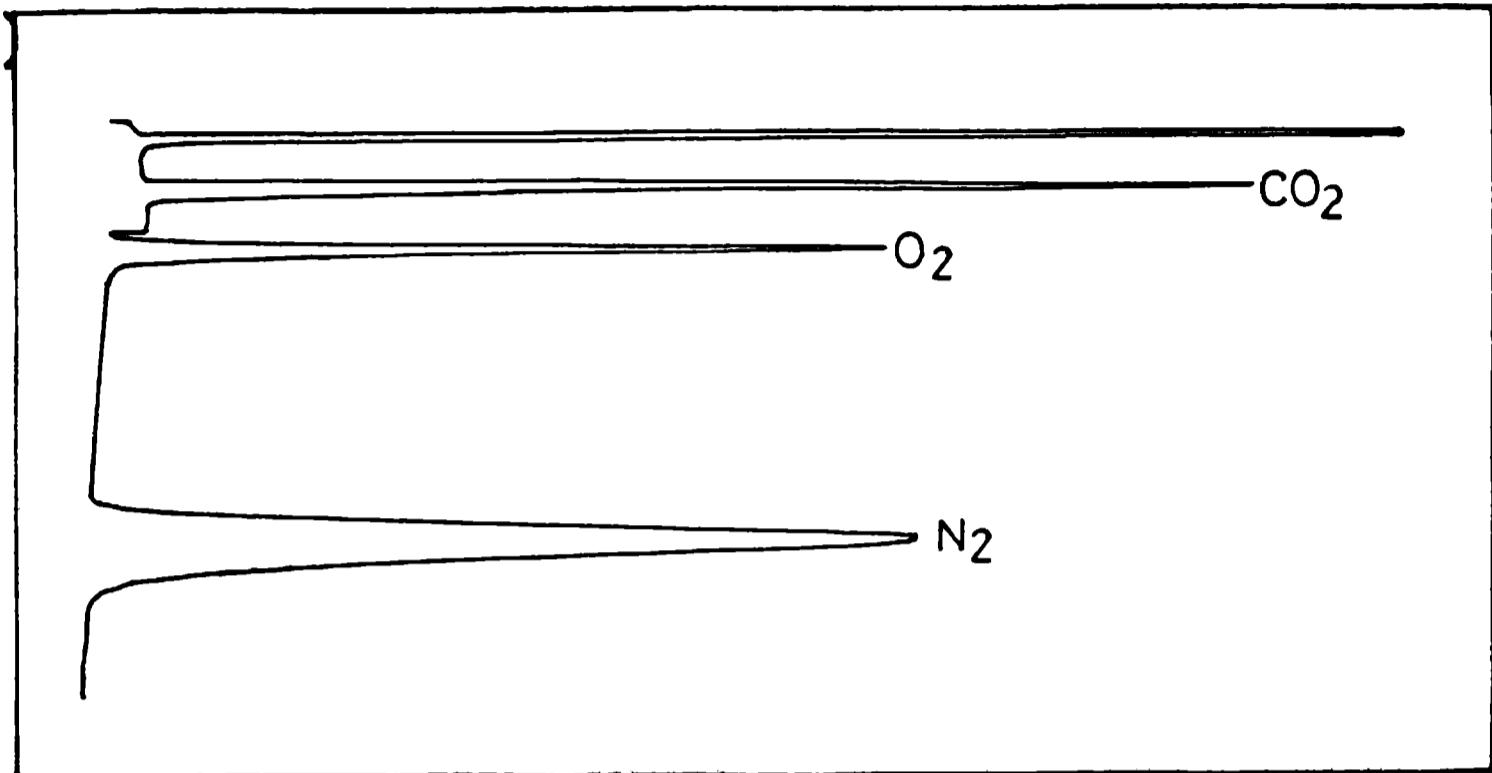


Figura 2. Cromatograma tipo.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Determinación de la permeabilidad al dióxido de carbono

La celda construída fue utilizada para determinar la permeabilidad al dióxido de carbono de varias películas plásticas, las cuales son comúnmente usadas para envasar quesos.

En la Tabla 1 se muestran los valores de permeabilidad al

dióxido de carbono obtenidos para las distintas películas utilizadas. A modo de ejemplo son mostradas, en la Figura 3, las rectas obtenidas para las experiencias realizadas con la película OT60-Q, cuyas pendientes y coeficientes de correlación aparecen en la Tabla 2 conjuntamente con el número de puntos utilizados para realizar la regresión lineal.

Tabla 1. Permeabilidades al dióxido de carbono y sus coeficientes de variación, de diferentes películas plásticas a una temperatura de 10°C.

Película	N° de muestras	Permeabilidad (cm ³ /m ² día atm)	C.V (%)
BK1	2	587	10.1
T50	2	6667	10.3
OT60-Q	4	495	11.2

Exactitud del método

Es reconocido que existen variaciones en los valores de permeabilidad entre diferentes partidas del mismo material plástico, así como también entre diferentes muestras de la misma partida. Por esta razón no existen valores de permeabilidad standard sino solamente rangos de valores para los diferentes materiales plásticos. Por tal motivo la exactitud de un método sólo puede calcularse aproximadamente, comprobando que los valores obtenidos están dentro del rango de permeabilidades que aparecen en la literatura. Los valores obtenidos por el método utilizado (Tabla 1)

concuerdan con los obtenidos por otros métodos y los rangos de permeabilidades informadas en la bibliografía.

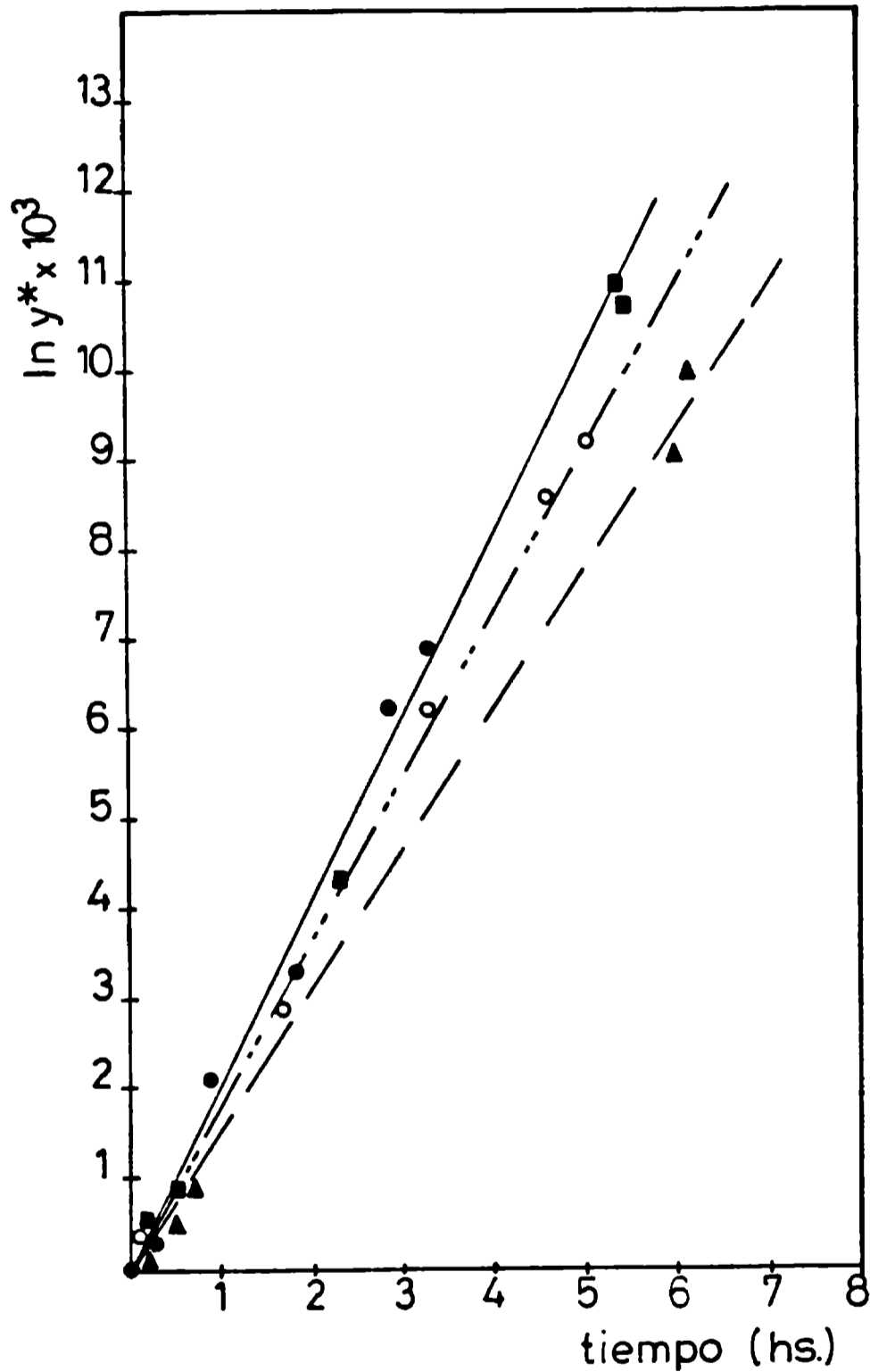


Figura 3. Rectas utilizadas para hallar las permeabilidades de la película OT60-Q a 10°C. Los distintos símbolos corresponden a diferentes muestras del mismo material plástico.

Tabla 2. Pendientes y coeficientes de correlación correspondientes a las rectas utilizadas para calcular las permeabilidades al dióxido de carbono de la película plástica OT60-Q a 10°C.

Muestra	Pendiente (1/h)	r	N° de puntos
1	1.59×10^{-3}	0.998	6
2	2.06×10^{-3}	0.998	6
3	2.01×10^{-3}	1.000	6
4	1.84×10^{-3}	1.000	6

Precisión del método

Para verificar la precisión del método utilizado para medir permeabilidades, se hicieron varias determinaciones para cada material, calculándose luego el coeficiente de variación como el cociente entre las desviaciones standars y la media de los distintas determinaciones de permeabilidad. Los resultados obtenidos para la película OT60-Q son mostrados en la Tabla 3.

Siguiendo el mismo procedimiento se calcularon los coeficientes de variación correspondientes a las otras películas utilizadas (Tabla 1). Estos valores son comparables a los propuestos por Taylor y col. (1960) como producidos por la variabilidad inherente de las muestras plásticas.

Sin embargo, la variación debida al método en si mismo no puede ser evaluada comparando los coeficientes de variación entre diferentes muestras, sino que debe ser basada sobre ensayos repetidos sobre la misma muestra de película. A efectos de compro-

bar la repetibilidad de los valores de permeabilidad obtenidos, se ensayaron dos muestras realizando la determinación dos veces en cada película. En la Fig. 4 se muestran las rectas obtenidas, cuyos valores de permeabilidad y coeficientes de variación aparecen en la Tabla 4. En dicha tabla puede observarse que los coeficientes de variación resultaron ser menores al 5 %; lo que implica que el método utilizado tiene una adecuada precisión.

Tabla 3. Permeabilidades al dióxido de carbono de OT60-Q a 10°C.

Muestra	Permeabilidad (cm ³ /m ² día atm)
1	420
2	543
3	532
4	486
valor medio	495
desviación standard	55.9
coeficiente de variación	11.2 %

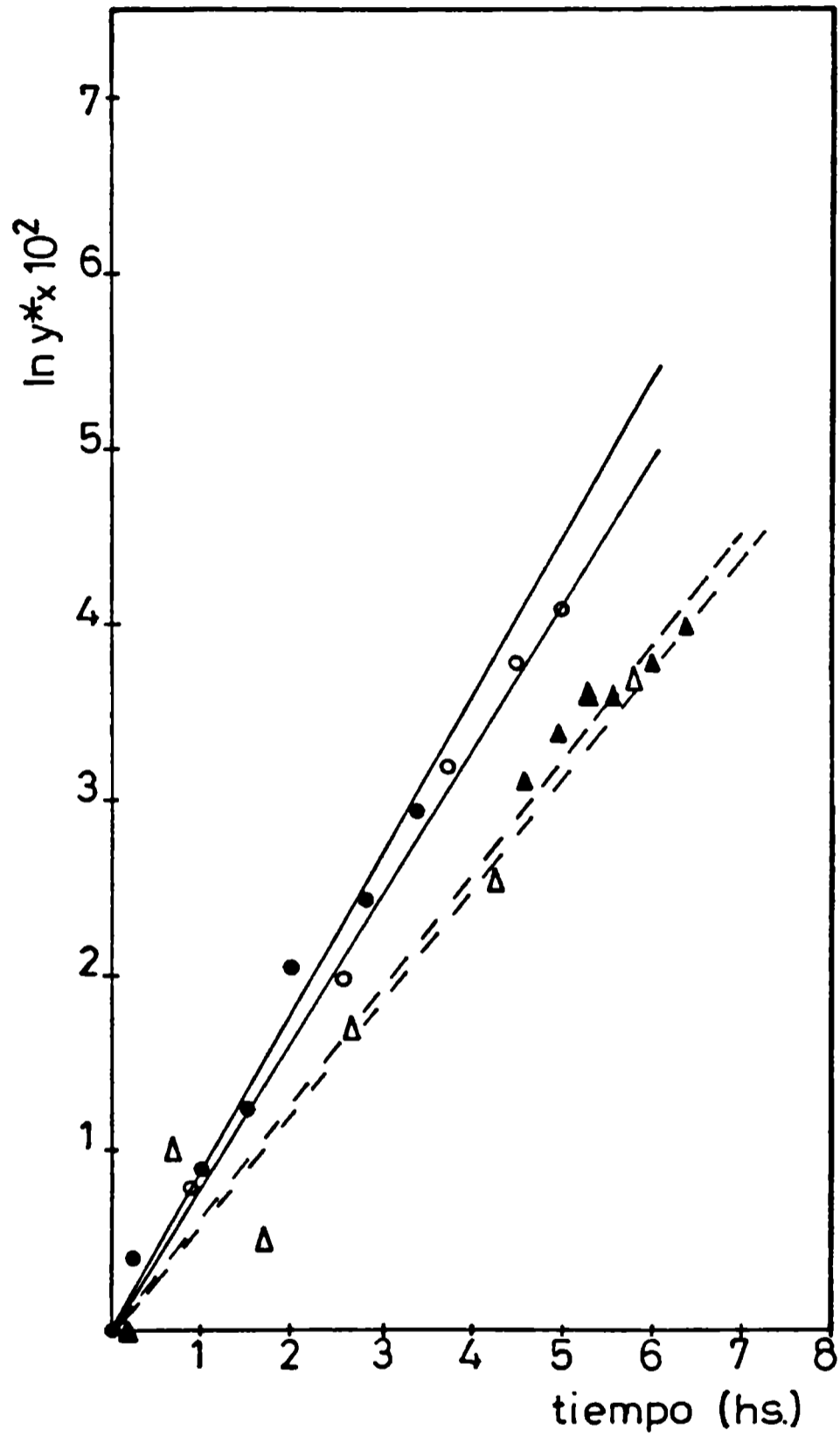


Figura 4. Rectas utilizadas para hallar las permeabilidades de la película BK1 a 28°C. Cada tipo de línea representa una muestra de película, la que fue medida dos veces.

Tabla 4. Permeabilidades al dióxido de carbono y sus coeficientes de variación obtenidos para BK1 repitiendo la determinación en cada muestra a 28°C.

Muestra	Permeabilidad (cm ³ /m ² día atm)
1	2370
	2208
	valor medio 2289
	C.V (%) 5.0
2	1726
	1669
	valor medio 1698
	C.V (%) 2.4

2.3.2. Efecto de la temperatura sobre la permeabilidad

Para observar la variación de la permeabilidad con la temperatura se determinaron sus valores para la película BK1 a 10°, 20°, 23° y 28°C. Los resultados obtenidos son mostrados en la Tabla 5.

Tabla 5. Permeabilidades al dióxido de carbono de BK1 a distintas temperaturas.

Temperatura (°C)	Permeabilidad (cm ³ /m ² día atm)
10	587
20	1259
23	1200
28	1990

Como modelo de la variación de la permeabilidad con la temperatura se planteó la ecuación de Arrhenius:

$$P = P_0 \exp(-E_p / R T) \quad (20)$$

a partir de la cual y aplicando logaritmos se llega a la ecuación de una recta:

$$\ln P = \ln P_0 - \frac{E_p}{R} \frac{1}{T} \quad (21)$$

A partir de los resultados obtenidos se obtuvo para la película BK1 la energía de activación $E_p = 11.07$ Kcal/mol y el factor preexponencial $P_0 = 2.21 \times 10$ cm³/m² día atm con un coeficiente de correlación $r = 0.951$. El valor de la energía de activación obtenido es similar al informado por Karel (1975) para el Saran, el cual es uno de los materiales que componen la película uti-

lizada.

2.3.3. Relación entre las permeabilidades al dióxido de carbono y al oxígeno

Para determinar, para la película BK1, la relación existente entre los valores de permeabilidad al dióxido de carbono y al oxígeno, se utilizó el método implementado para medir la permeabilidad al oxígeno a 23°C. El valor obtenido fue de 170cm³/m² día atm; con lo cual la relación entre la permeabilidad al dióxido de carbono y la permeabilidad al oxígeno fue de 7. Este valor es similar al informado por Crank y Park (1968) para el Saran.

Puesto que el dióxido de carbono es una molécula más grande que la de oxígeno, se esperaría que su coeficiente de difusión fuese menor, tal como puede verse en el caso del polietileno de baja densidad donde el coeficiente de difusión del dióxido de carbono a 15°C es 175×10^{-5} m²/seg y al oxígeno es de 420×10^{-5} m²/seg (Crank y Park, 1968). Sin embargo, la permeabilidad al dióxido de carbono en distintas películas plásticas resulta mayor que la del oxígeno como se determinó experimentalmente para el caso del BK1. En polietileno ocurre la misma situación ya que la permeabilidad al oxígeno es de 12000cm³/m² día atm mientras que al dióxido de carbono es de 70000cm³/m² día atm (Karel, 1975). Esta inversión en la relación de los valores de permeabilidad y difusión se debe a que la solubilidad del dióxido de carbono en polímeros es mucho mayor que la de los otros gases.

2.4. DISCUSION

De los resultados obtenidos puede observarse que la celda

construida resultó ser adecuada para la medición de la permeabilidad gaseosa por el método de medida de incremento de concentración.

En cuanto a las películas utilizadas la BK1 y la OT60-Q presentaron valores de permeabilidad similares y menores que la T50, por lo cual resultan ser las más apropiadas para el envasado de los quesos que necesitan mayores tiempos de maduración. Con la utilización de estas películas se puede prevenir al queso del contacto con el oxígeno para evitar el desarrollo de mohos, pero dado que la permeabilidad al dióxido de carbono es más alta permite que parte de dicho gas pase a través de la película evitando así la hinchazón de la bolsa.

CAPITULO 3

MATERIAS PRIMAS

3.1. Muestras de queso

Se utilizaron quesos tipo Port Salut y Tybo Argentino, provenientes de una empresa local (Unión Gandarese S.A.C.I.A), que fueron elaborados en condiciones controladas en la planta y almacenados a 10°C en nuestro laboratorio.

3.1.1. Queso Port Salut Argentino

Según el artículo 625 del Código Alimentario Argentino se denomina queso Port Salut Argentino o queso Saint Paulin Argentino al producto fresco, graso, elaborado con leche entera o normatizada, acidificada por cultivo de bacterias lácticas y coagulada por cuajo y/o enzimas específicas. Su masa deberá ser semicocida, moldeada, prensada, salada y madurada y su pasta blanda, de consistencia elástica, sabor dulce, aroma acentuado típico y color blanco amarillento.

3.1.1.1. Método de elaboración

Los quesos Port Salut fueron elaborados usando leche pasteurizada (3 % grasa, densidad 1.0295 Kg/m³, acidez 15°Dc) con el agregado de cloruro de calcio al 0.025 % y cuajo microbiano al 0.0183 %. El cuajo microbiano (Marzyme) estaba compuesto por enzimas coagulantes de Mucor miehei. El starter (1 %) fue una combinación de Streptococcus thermophilus (91 %) y Lactobacillus bulgaricus (9 %). El cuajo microbiano fue incorporado a la leche 30 min después del agregado del starter a una temperatura de 38°C. El tiempo de coagulación fue aproximadamente 30 min; la cuajada fue cortada en cubos de 3 cm de lado, lavada con agua y agitada a 38°C durante 15 a 20 min. El suero fue removido de la cuajada; los quesos fueron prensados ($p = 3.9 \times 10^5$ Pa) durante

7min y volteados para invertir la operación. Luego fueron trasladados a moldes, prensados durante 30 - 40 min y mantenidos a 30°C hasta que el pH fue 5.2 - 5.3. El salado fue realizado en salmuera (2°C, pH = 5.2) durante 4 hs. Los quesos fueron almacenados en cámaras a 10°C con humedad relativa de 58 - 60% durante 5 días y luego envasados en bolsas LOVAC T50 compuestos por 4 capas coextrudadas de polietileno con las siguientes permeabilidades gaseosas $PO_2 = 2400\text{cm}^3/\text{m}^2$ día atm, $PCO_2 = 9600\text{cm}^3/\text{m}^2$ día atm a 23°C y una permeabilidad al vapor de agua $WVP = 4\text{ g}/\text{m}^2$ día a 85% de humedad relativa.

Fueron utilizadas siete diferentes partidas de quesos; de cada una se analizaron cuatro muestras, las cuales fueron almacenadas a 10°C durante un período de maduración entre 5 y 45 días. Se utilizaron quesos con dos humedades diferentes: normal (51 - 52%) y aumentada (54 - 55%).

3.1.2. Queso Tybo Argentino

Según el artículo 633 del Código Alimentario Argentino se denomina queso Tybo Argentino al producto semiduro, semigraso, elaborado con leche semidescremada o normatizada, acidificada por cultivo de bacterias lácticas y coagulada por cuajo y/o enzimas específicas. Su masa deberá ser lavada, semicocida por agregado de agua caliente, preprensada con el suero, moldeada, prensada, salada y madurada y su pasta firme de consistencia elástica con o sin algunos ojos pequeños y bien diseminados; sabor y aroma bien desarrollados y color blanco amarillento.

3.1.2.1. Método de elaboración

Los quesos Tybo fueron elaborados usando leche pasteurizada (3% de grasa, densidad $1.0295\text{Kg}/\text{m}^3$, acidez 15°Dc) con el agrega-

do de cloruro de calcio al 0.025% y cuajo microbiano al 0.0216%. El cuajo microbiano (Marzyme) estaba compuesto por enzimas coagulantes de Mucor miehei. El starter (1 %) fue Streptococcus thermophilus. Durante el llenado de la tina con leche a 33°C se le agregó el cloruro de calcio, el starter y el colorante amarillo (0.0025 %). A continuación se le incorporó el cuajo y se mezcló durante 2 a 3 min. El tiempo de coagulación fue aproximadamente 30 min; la cuajada fue cortada en cubos de 1 cm de lado, sometida a un proceso de cocción a 44°C y lavada con agregado de agua a 43°C. El suero fue removido de la cuajada; los quesos fueron prensados ($p = 3.9 \times 10^5$ Pa) durante 12 min y volteados para invertir la operación. Luego fueron trasladados a moldes y prensados durante 3 hs. El salado fue realizado en salmuera ($T = 8^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 5.25$) durante 24 hs. Los quesos fueron almacenados en cámaras a 10°C con humedad relativa del 60 % durante 3 días y luego envasados en bolsas LOVAC OT60-Q compuestos por 4 capas coextrudadas siendo las exteriores de polietileno y las interiores de polietileno modificado con polivinilalcohol, con las siguientes permeabilidades gaseosas $\text{PO}_2 = 150\text{cm}^3/\text{m}^2$ día atm, $\text{PCO}_2 = 600\text{cm}^3/\text{m}^2$ día atm a 23°C y una permeabilidad al vapor de agua $\text{WVP} = 4\text{g}/\text{m}^2$ día a 85% de humedad relativa.

Fueron utilizadas 2 diferentes partidas de quesos. De cada una 10 muestras fueron analizadas, las que se almacenaron a 10°C durante un período de maduración entre 3 y 120 días.

CAPITULO 4

COMPORTAMIENTO REOLOGICO

4.1 INTRODUCCION

4.1.1 Ensayos fuerza - deformación

Para caracterizar la textura de un queso pueden utilizarse dos tipos de métodos: sensoriales e instrumentales. Los últimos tienen algunas ventajas sobre los primeros ya que resulta más fácil su realización y estandarización. Sin embargo los tipos de fuerzas ejercidas y las respuestas obtenidas no son siempre claramente definidas y los resultados dependen de las distintas variables; en particular la temperatura, relación de compresión, forma y tamaño de las muestras (Bourne, 1982; Green y col., 1985).

En los métodos sensoriales, el instrumento analítico es el panel de degustación. El resultado obtenido depende de la objetividad, precisión y reproducibilidad del juicio de los panelistas. Por lo tanto es importante la selección y entrenamiento de las personas que forman el panel. Además se deben controlar las condiciones del ensayo, la preparación y presentación de las muestras para poder así minimizar su influencia sobre los jurados (Larmond, 1976).

En cuanto a los métodos instrumentales, son comúnmente usados los test de compresión uniaxial en platos paralelos utilizando la Prensa Instron para obtener las curvas fuerza-deformación (Shama y Sherman, 1973; Culioli y Sherman, 1976; Vernon-Carter y Sherman, 1978; Green y col., 1985). El método de análisis de perfil de textura (TPA) involucra dos ciclos consecutivos de compresión (Szczesniak, 1975), a partir de los cuales pueden calcularse, a través de las curvas obtenidas diferentes parámetros tales como: dureza, adhesividad, cohesividad y gomosidad. El método ha sido aplicado a un gran número de variedades de quesos (Lee y col., 1978; Imoto y col., 1979; Chen y col., 1979; Emmons y col., 1980).

Desde el punto de vista organoléptico, la firmeza o dureza en el queso, es una de las características de textura más importantes con respecto a las preferencias de los consumidores y percepción sensorial (Lee y col., 1978). Se la puede definir como la fuerza requerida para penetrar la muestra de queso con los dientes, correspondiendo en un ensayo instrumental a la máxima fuerza ejercida sobre la muestra (Sherman, 1969). La cohesividad representa el grado de deformación del queso después de la ruptura (Chen y col., 1979). La adhesividad se define como la fuerza requerida para remover el queso adherido a la superficie de los dientes, que se refleja en la adherencia de la muestra al plato de compresión del equipo utilizado durante el ensayo. Este parámetro resulta de interés durante el manejo y envasado de los quesos, ya que no es fácilmente detectable como estímulo sensorial separado (Lee y col., 1978; Chen y col., 1979).

Los valores de estos parámetros determinados por métodos sensoriales e instrumentales tienen buena correlación, la cual está íntimamente relacionada con la correcta elección de las condiciones de ensayo (Brennan y col., 1970; Lee y col., 1978; Eberhard y Fluckiger, 1978; Green y col., 1985).

No existen generalmente condiciones únicas que resulten óptimas para todos los tipos de quesos, ni para todas las propiedades mecánicas medidas con un test fuerza-deformación. Por lo tanto es necesario encontrar la combinación más apropiada para el queso que se desea analizar y los parámetros que se van a medir.

4.1.2 Ensayos de viscoelasticidad

La reología se define como el estudio del flujo y la deformación de la materia. No es inmediatamente evidente que todas las muestras de queso puedan fluir, excepto en el caso de alguno de los más blandos. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, hasta los quesos más duros pueden fluir. No obstante es la segunda parte de

la definición, (el estudio de la deformación) la que es más obviamente aplicada cuando se describen las propiedades de algunos quesos puesto que la deformación puede abarcar todos los aspectos de cambios de posición o forma de una muestra.

Podría probablemente describirse al queso como un sólido. La característica que lo define como tal es su rigidez, que es su posibilidad para mantener indefinidamente su forma particular. La rigidez es una medida de la relación entre el esfuerzo aplicado a un cuerpo sólido y la deformación resultante. Si el material es un sólido elástico, su relación será invariante para el material y la muestra se recobrarán espontáneamente una vez que la fuente del esfuerzo sea eliminada.

En contraste, la característica que define a un líquido es la fluidez, que es su habilidad para fluir y tomar la forma del contenedor. Sin embargo se usa con más frecuencia la inversa de esta característica llamada viscosidad. Esta propiedad es definida como la relación entre el esfuerzo aplicado a la muestra y la velocidad de flujo producida. Si la muestra es un líquido newtoniano la viscosidad será invariante para el material (Prentice, 1987).

Un material que exhibe ambas propiedades, elásticas y viscosas, es conocido como viscoelástico. El queso, como la mayoría de los alimentos sólidos, ingresa netamente en esta categoría; por lo tanto cuando se somete a una deformación instantánea y ésta se mantiene constante, la tensión soportada por el material disminuye con el tiempo. Este fenómeno se denomina relajación y puede ser representado por una curva característica (Sherman, 1970; Fiszman y col., 1986). Dada la diversidad y complejidad de comportamientos de los materiales reales, se utilizan modelos mecánicos, para describir su respuesta a la aplicación de una fuerza externa.

El objetivo de este capítulo es analizar el comportamiento reológico de los quesos, estudiando las modificaciones de los parámetros representativos de la textura de los mismos a lo largo

de la maduración.

4.2. MATERIALES Y METODOS

4.2.1. Determinaciones de textura por ensayos de compresión

Los ensayos se realizaron con una Prensa Instron modelo 1132 (EEUU). Esta máquina fue diseñada para estudiar las propiedades mecánicas de materiales y realizar ensayos de compresión, tensión, flexión, puntura, extrusión y otros estudios más sofisticados. La máquina consta de dos partes:

- 1) un mecanismo de conducción que maneja un cabezal horizontal en dirección vertical que se desplaza a velocidad controlada en el rango 0.02 - 50 cm/min
- 2) un sistema de detección y registro de la fuerza ejercida consistente en celdas cuya salida alimenta el registrador.

En este estudio se trabajó con celda de compresión de 50 kg y velocidad de cabezal de 5 cm/min.

Las muestras fueron cortadas, de la zona central del queso, en cilindros por medio de un sacabocado. Los ensayos fueron realizados a temperatura ambiente. Se efectuaron un mínimo de 6 replicados por cada tiempo de muestreo y se calcularon los valores medios.

Durante los ensayos, los platos de metal de la Prensa Instron no fueron lubricados, sin embargo la humedad exudada durante la compresión fue suficiente para reducir la fricción entre la muestra y el plato.

4.2.1.1. Curvas fuerza-deformación

Las muestras de queso eran de forma cilíndrica de 2 cm de altura y diámetro 4.8 cm en el caso del queso Port Salut y 1.5 cm para el Tybo. Las muestras fueron comprimidas en un 80 % de su altura original. Se utilizó el test de compresión uniaxial realizándose 2 ciclos consecutivos (Bourne, 1968) determinándose los siguientes parámetros: dureza (D), cohesividad (C) y adhesividad (A) (Breene, 1975; Szczesniack, 1975; Chen y col., 1978; Lee y col., 1978; Bourne, 1982). Una curva típica se muestra en la Fig. 5. La altura máxima del pico del primer ciclo fue tomada como valor de la dureza (Sherman, 1969). La adhesividad correspondió al área del primer pico invertido (A_3) y la cohesividad fue evaluada como relación entre áreas bajo el segundo y el primer pico (A_2/A_1). Por otra parte se midió la deformación relativa en el umbral de ruptura.

Entre las variables a tener en cuenta, para la realización de los ensayos fuerza-deformación, se puede mencionar la velocidad a la cual la muestra es deformada, la que produce curvas mejor definidas cuando sus valores son bajos (Vernon-Carter y Sherman, 1978). Cambios de esta velocidad de 1 a 100 mm/min incrementan ligeramente la fuerza de compresión pero no producen efecto apreciable sobre la cohesividad. En cuanto a la adhesividad disminuye a tal punto que no puede ser apreciada a las velocidades más altas.

La temperatura a la que se encuentra la muestra también tiene influencia sobre la dureza, adhesividad y fuerza en el punto de ruptura, que decrecen con el aumento de temperatura. Por lo tanto es necesario fijarla y mantenerla constante en los distintos ensayos (Lee y col., 1978).

Otra variable a considerar, que resulta ser la más importante en la variación de la respuesta mecánica del queso cuando es comprimido, es la relación de compresión. La cohesividad disminuye con el aumento de dicha variable, mientras que la dureza y la

adhesividad aumentan rápidamente cuando se comprime la muestra a más del 60% (Imoto y col., 1979).

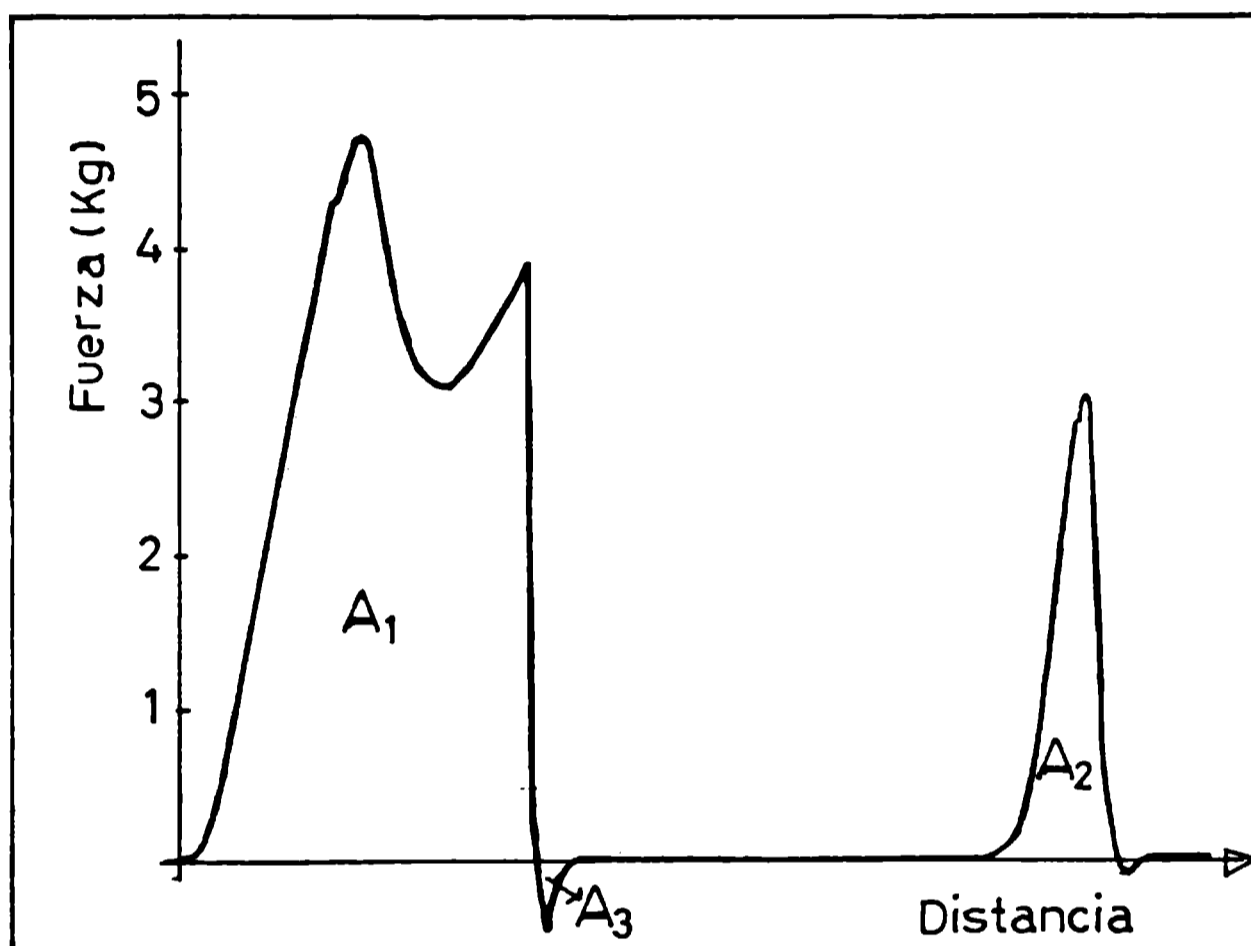


Figura 5. Curva típica fuerza-deformación correspondiente a un ensayo de compresión.

Posteriormente las curvas fuerza-deformación fueron convertidas en curvas de tensión verdadera-deformación relativa verdadera suponiendo muestras incompresibles. Al considerar volumen constante se puede plantear:

$$V = a L = a_0 L_0 \quad (1)$$

con a = área de la muestra después de la compresión y a_0 = área inicial. De donde resulta:

$$a = a_0 L_0 / L \quad (2)$$

Teniendo en cuenta que la tensión verdadera (σ_v) es:

$$\sigma_v = F / a \quad (3)$$

reemplazando el area en la ecuación anterior se obtiene:

$$\sigma_v = \frac{F}{a_0} \frac{L}{L_0} = \frac{F}{a_0} \left(\frac{L_0 - \Delta L}{L_0} \right) \quad (4)$$

$$\sigma_v = \sigma (1 - \Delta L/L_0) \quad (5)$$

En cuanto a la deformación relativa verdadera (ϵ_v) se puede definir como:

$$d \epsilon_v = - d L / L \quad (6)$$

donde L es la longitud verdadera de la muestra la cual varía con la deformación. Por lo tanto resulta:

$$\epsilon_v = - \int_{L_0}^L \frac{d L}{L} = - \ln (L / L_0) \quad (7)$$

$$\epsilon_v = \ln \frac{L_0}{L_0 - \Delta L} \quad (8)$$

(Peleg, 1977; Nussinovitch y col., 1989; Nussinovitch y col., 1990).

A partir de las curvas obtenidas se calculó la pendiente inicial o módulo de deformabilidad (Mohsenin y col., 1977; Kfoury y col., 1989). Asimismo se determinó el porcentaje máximo de deformación relativa para el cual el comportamiento era lineal.

4.2.1.1.1 Cálculo de las áreas.

Las áreas debajo de las curvas correspondientes a los ensayos de textura fueron calculados mediante un analizador semi-automático marca Zeiss, Morphomat 30 (Alemania).

4.2.1.2. Curvas de relajación

Se utilizaron muestras de 2.5 cm de altura con diámetro de 4.8 cm para el queso Port Salut y 1.5 cm para el Tybo.

Las curvas de relajación a lo largo de la maduración se obtuvieron comprimiendo las muestras de queso hasta alcanzar el porcentaje máximo de deformación relativa para el cual el comportamiento era lineal (determinado en pruebas anteriores). Llegado este punto se detenía el cabezal (tiempo = 0) y se registraba la fuerza en función del tiempo por un período de 300 seg.

Las curvas de relajación correspondientes a quesos con diferentes períodos de maduración previamente adimensionalizados respecto a la fuerza inicial, fueron ajustados por regresión no lineal, a los diferentes modelos mecánicos, por medio de un programa de computadora para regresiones no lineales a partir del cual se obtenían los parámetros y sus errores (módulo Nonlinear Estimation de SYSTAT).

4.3. RESULTADOS Y DISCUSION

4.3.1. Curvas fuerza-deformación.

Curvas típicas obtenidas de ensayos de compresión uniaxial (Fig. 6 y 7) a diferentes tiempos de maduración muestran las variaciones ocurridas durante el período de afinado.

En los quesos más jóvenes no aparece el área A_3 que representa la adhesividad y sí aparece en los más maduros mientras que tanto el área A_1 como el A_2 disminuyen con el transcurso de la maduración, decreciendo también la fuerza máxima.

A partir de las curvas obtenidas para cada tiempo, se calcularon los parámetros de textura: dureza (D), cohesividad (C), adhesividad (A) y deformación relativa en la ruptura (D_r).

Las curvas fuerza-deformación relativa convertidas en curvas tensión verdadera-deformación relativa verdadera a través de las ecuaciones (5) y (8), fueron utilizadas para determinar el módulo de deformabilidad (M_d) a lo largo de la maduración.

4.3.1.1. Queso Port Salut

Los parámetros dureza, adhesividad y cohesividad fueron graficados en función del tiempo de maduración (Fig. 8 a, b, c), incluyendo el efecto del contenido de agua para los dos primeros parámetros. Durante el período de afinado se observó una disminución de la dureza y un incremento de la adhesividad y la cohesividad. Después de un período de 25 días los parámetros de textura analizados permanecieron aproximadamente constantes.

En cuanto a los efectos de los diferentes contenidos de agua, se observó que los quesos más húmedos mostraban un marcado incremento en la adhesividad y una menor disminución en la dureza en comparación con los de menor humedad.

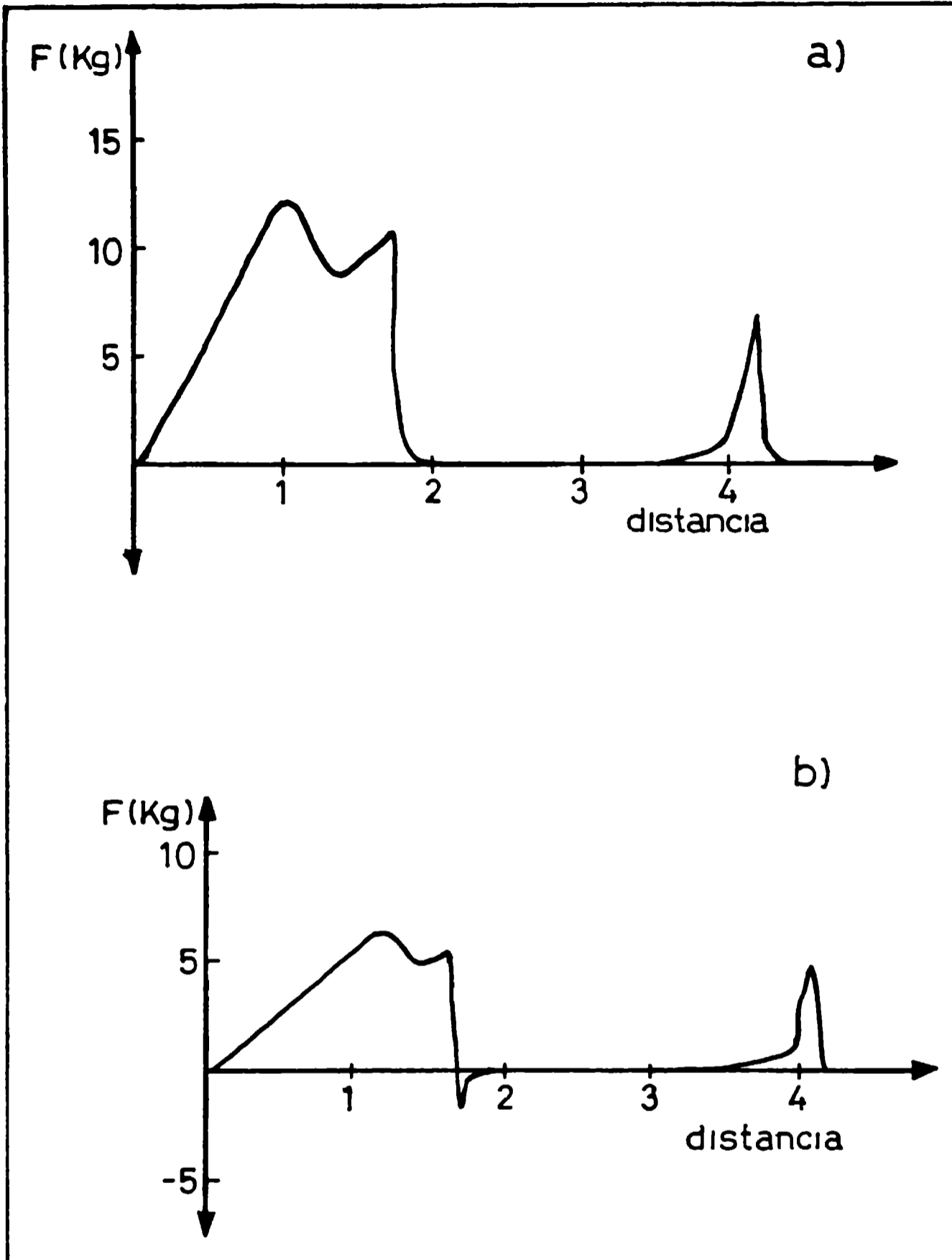


Figura 6. Curvas fuerza-deformación obtenidas para queso Port Salut Argentino a dos tiempos de maduración.

a) 9 días b) 36 días

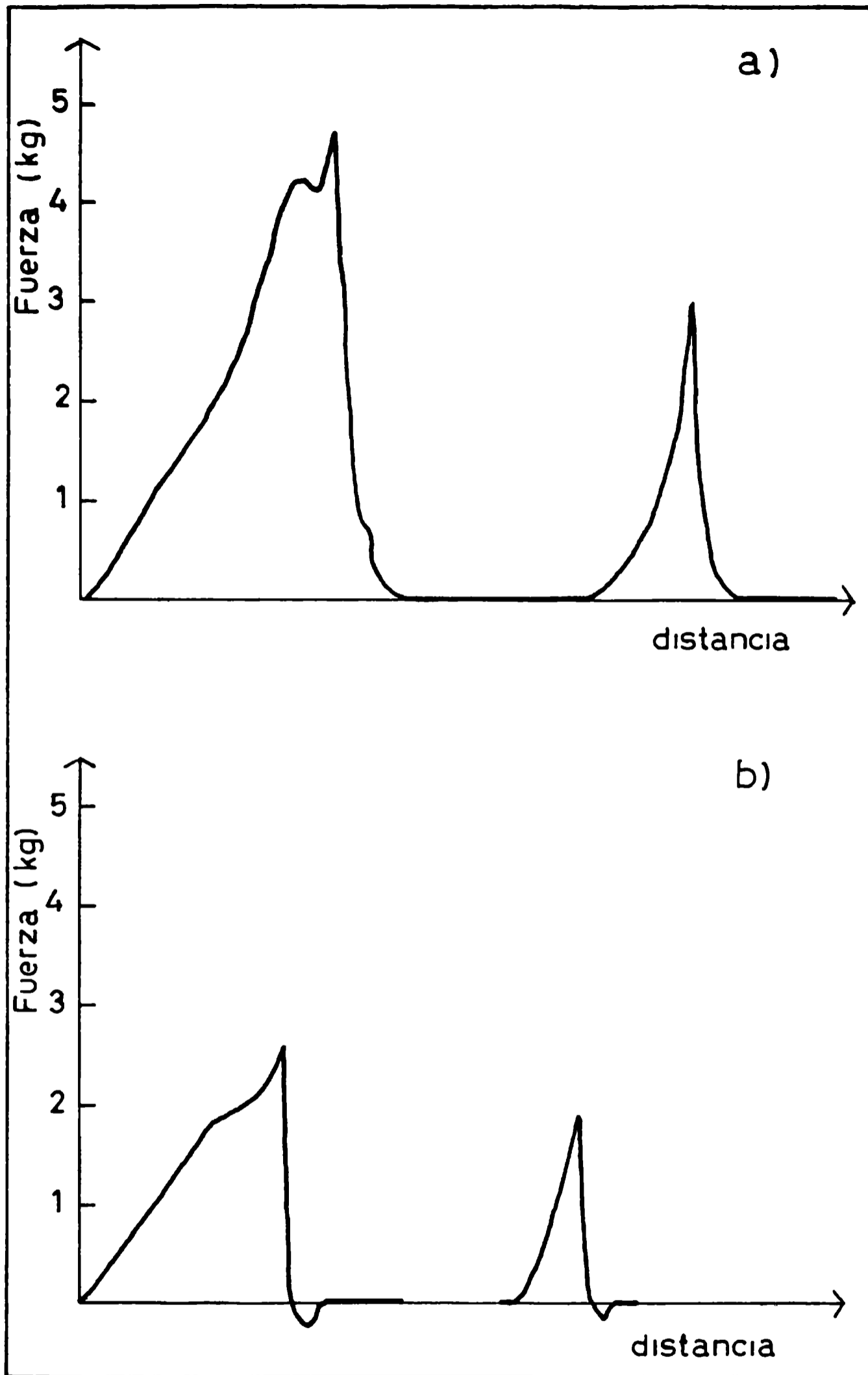


Figura 7. Curvas fuerza-deformación obtenidas para queso Tybo Argentino a dos tiempos de maduración.

a) 4 días

b) 73 días

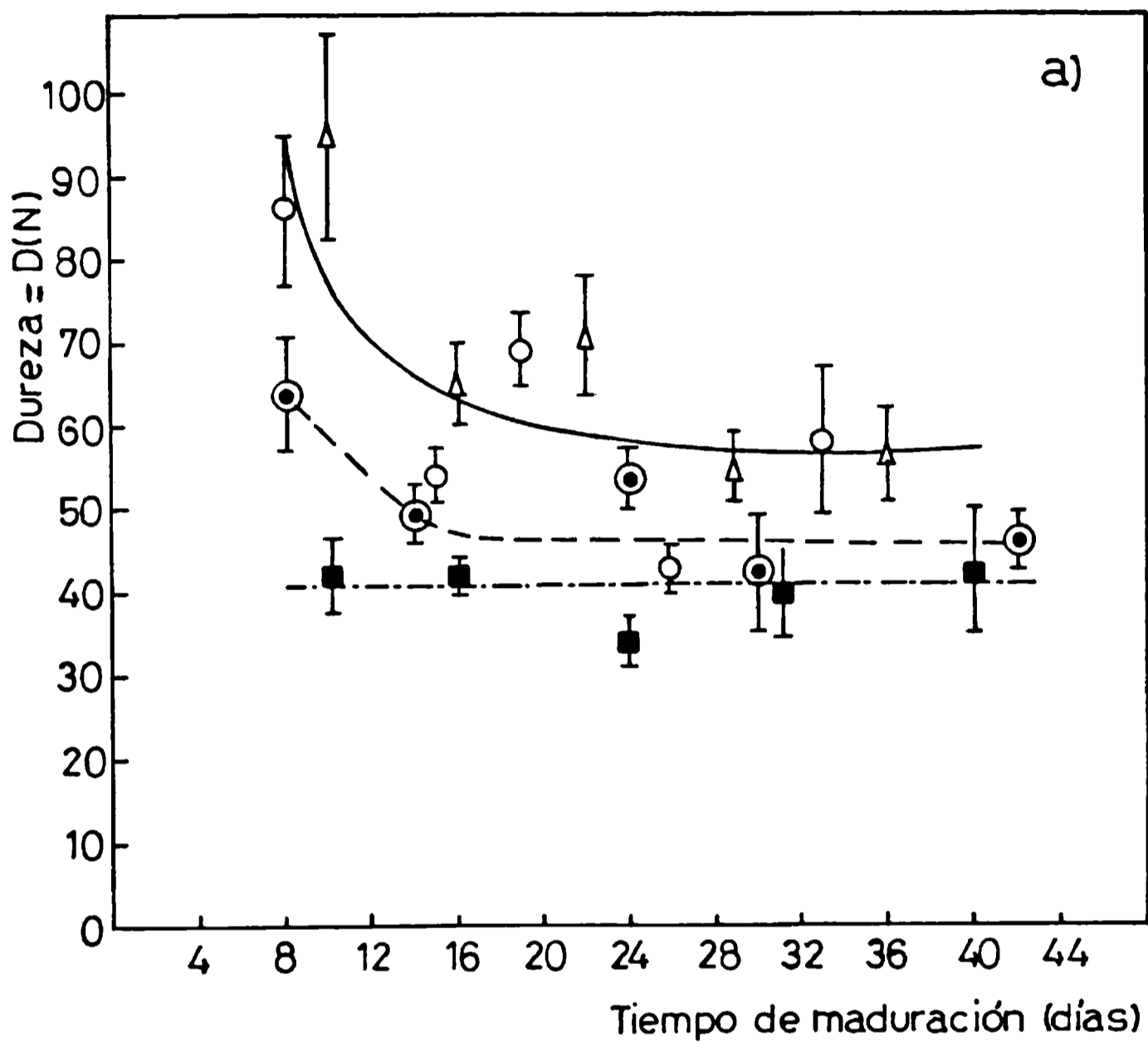


Figura 8 a. Variación de la dureza con el tiempo de maduración para el queso Port Salut. Las barras indican los límites de confianza (P = 0.05). Contenido de agua: ○, △: 51 - 52% ; ⊙: 54% ; ■: 55%.

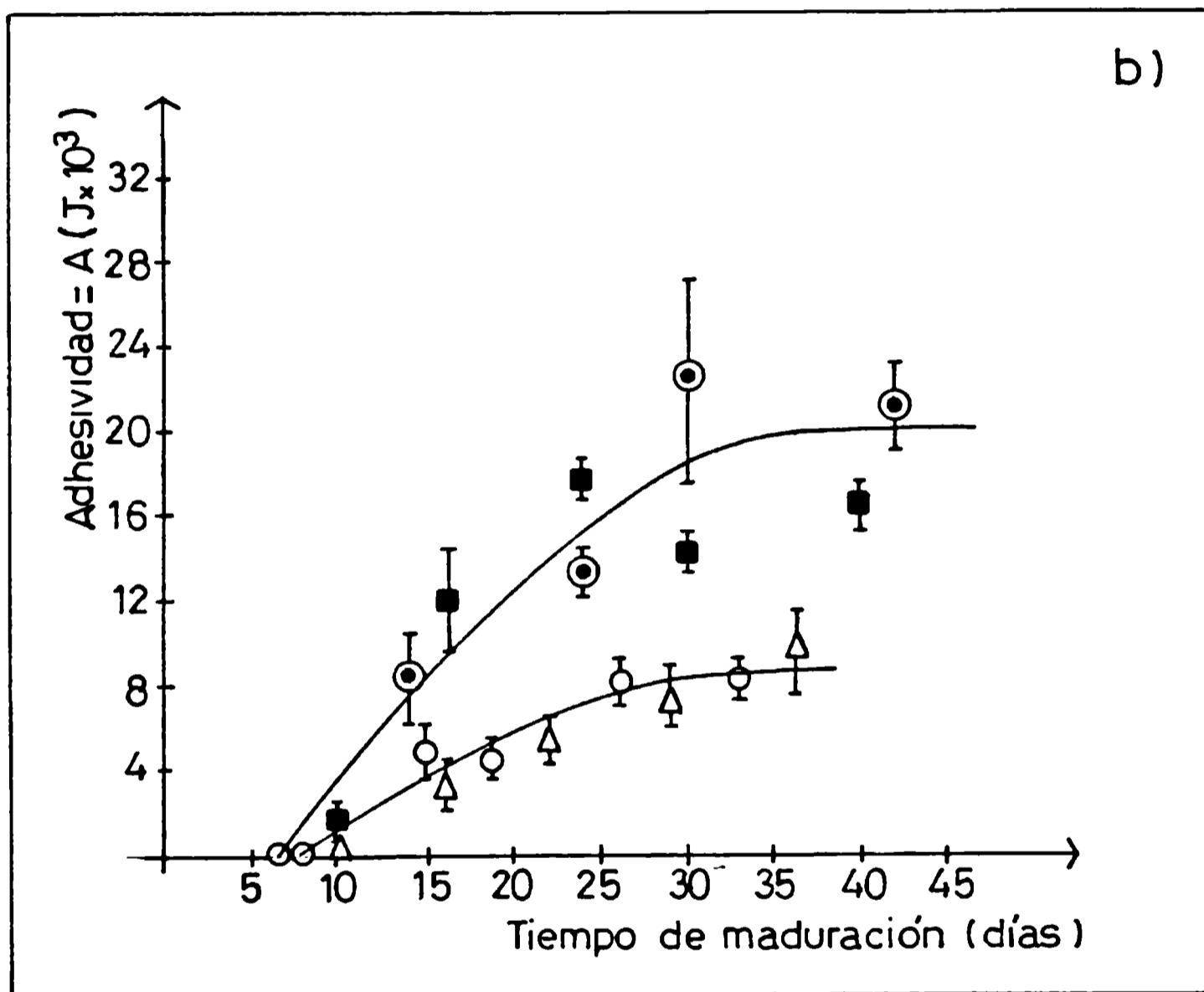


Figura 8 b. Variación de la adhesividad con el tiempo de maduración para el queso Port Salut. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).
 Contenido de agua: ○, △: 51 - 52% ; ⊙: 54% ; ■: 55%.

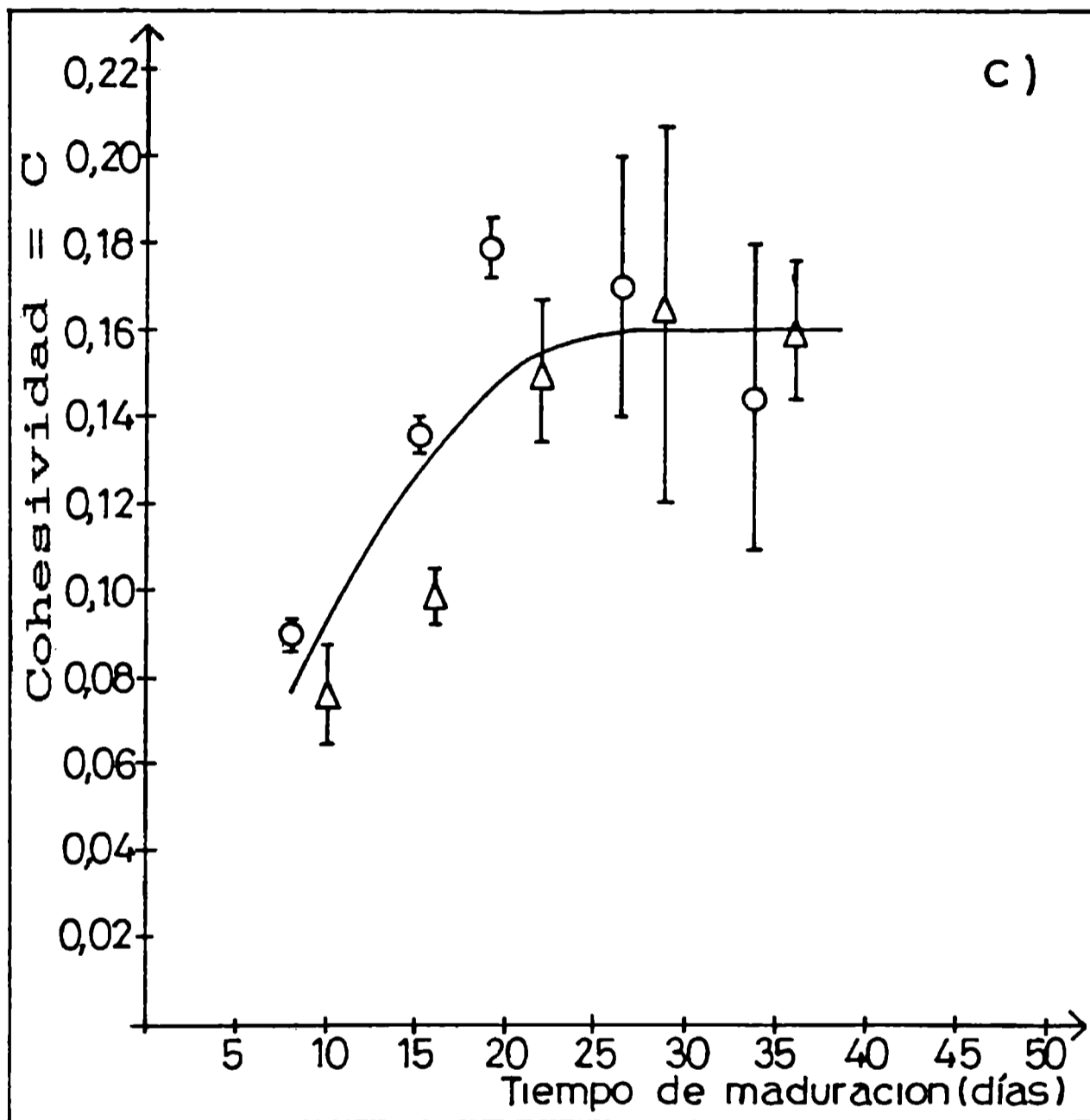


Figura 8 c. Variación de la cohesividad con el tiempo de maduración para el queso Port Salut. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$). Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso. Contenido de agua: 51 - 52%.

Wodecki y col. (1984) informaron un comportamiento similar en queso Edam y establecieron la existencia de una estrecha relación entre la dureza del queso madurado y la disminución del contenido de agua durante el afinado. En nuestro caso la situación fue diferente, ya que los quesos fueron envasados en películas plásticas y sus humedades permanecieron constantes durante el período total de maduración.

El módulo de deformabilidad disminuyó a lo largo de la maduración (Fig. 9); este parámetro muestra una mayor dispersión en sus valores que los obtenidos previamente.

Asimismo se calculó la deformación relativa en la ruptura cuyo aumento con el tiempo puede observarse en la Fig. 10.

Por otra parte se determinó que el queso presentaba un comportamiento lineal hasta una deformación relativa aparente del 50%, valor que fue elegido para realizar posteriormente las experiencias de relajación.

4.3.1.2. Queso Tybo

Al igual que para el queso Port Salut la dureza y el módulo de deformabilidad decrecieron y la adhesividad aumentó, hasta alcanzar un valor aproximadamente constante en un período que en este caso fue de 70 días (Fig. 11 a, b y 12). La cohesividad y la deformación relativa en la ruptura mostraron un comportamiento diferente ya que para este queso no se observaron diferencias significativas, siendo sus valores promedios 0.223 ± 0.028 y $70 \pm 2.6\%$ respectivamente.

Se observó que el queso presentó un comportamiento elástico (relación lineal entre esfuerzo y deformación) hasta una deformación relativa aparente del 40%

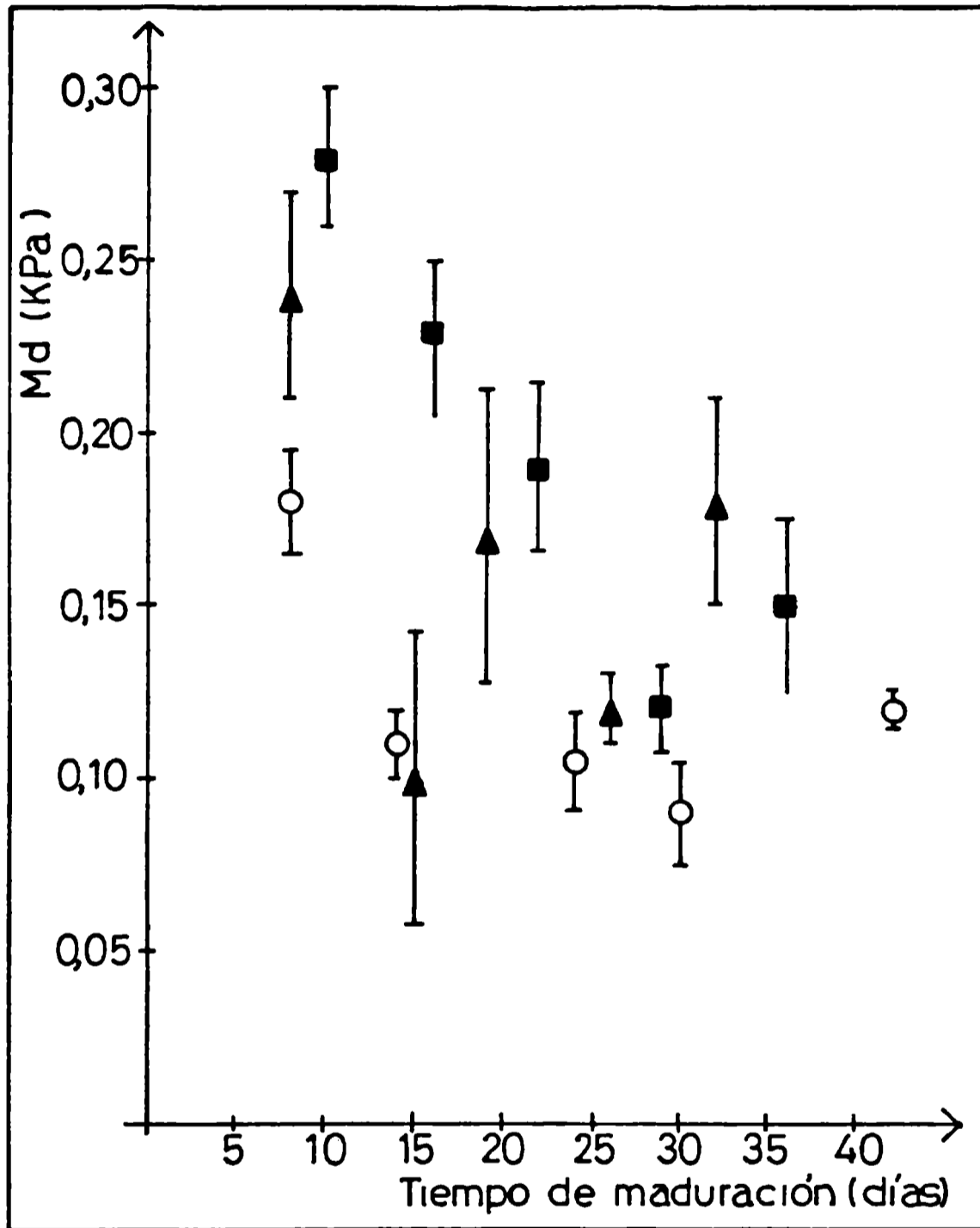


Figura 9. Efecto del tiempo de maduración sobre el módulo de deformabilidad (Md) para queso Port Salut Argentino. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

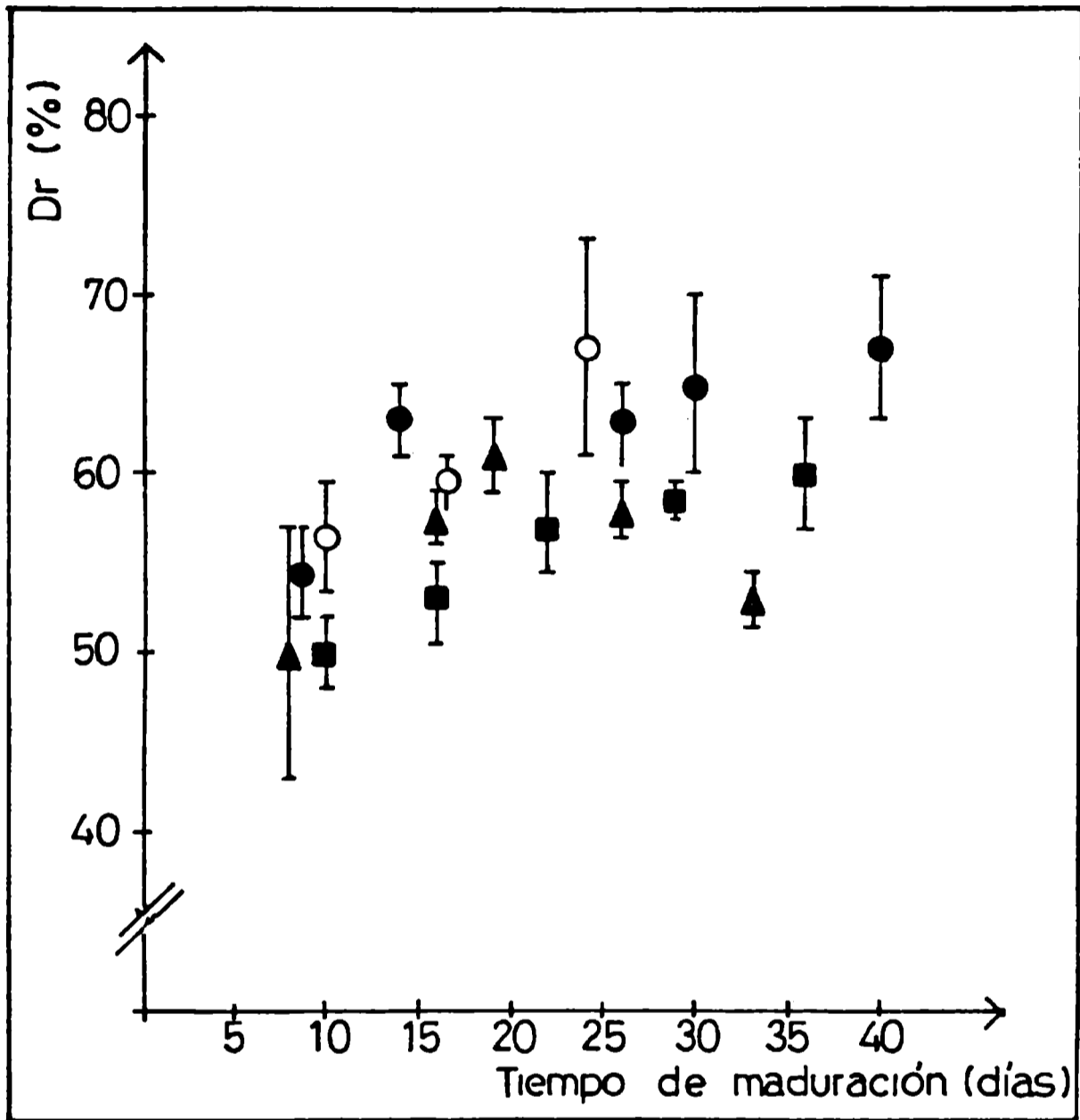


Figura 10. Variación de la deformación relativa en la ruptura (Dr) durante la maduración de queso Port Salut Argentino. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

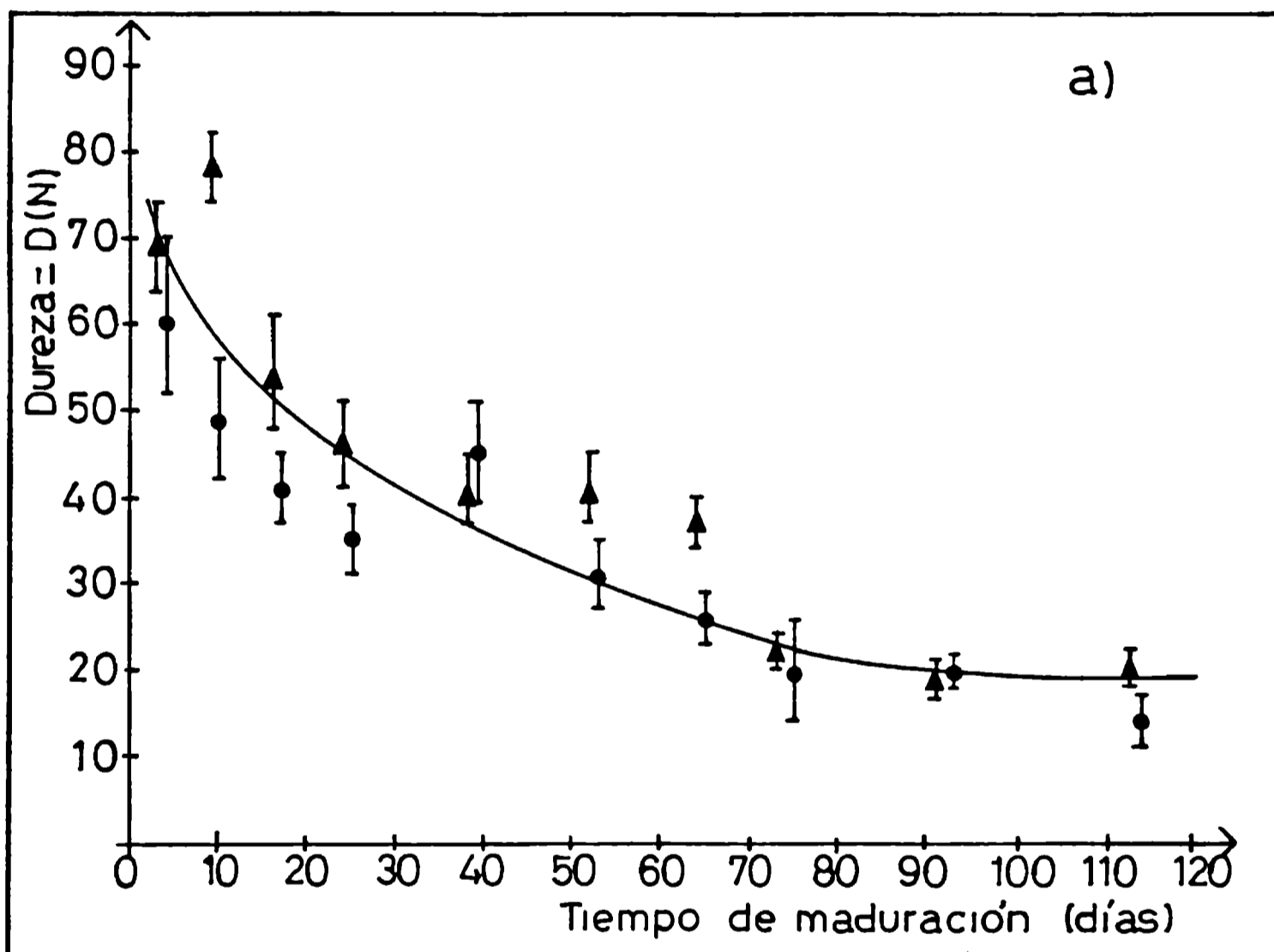


Figura 11 a. Variación de la dureza con el tiempo de maduración para el queso Tybo. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

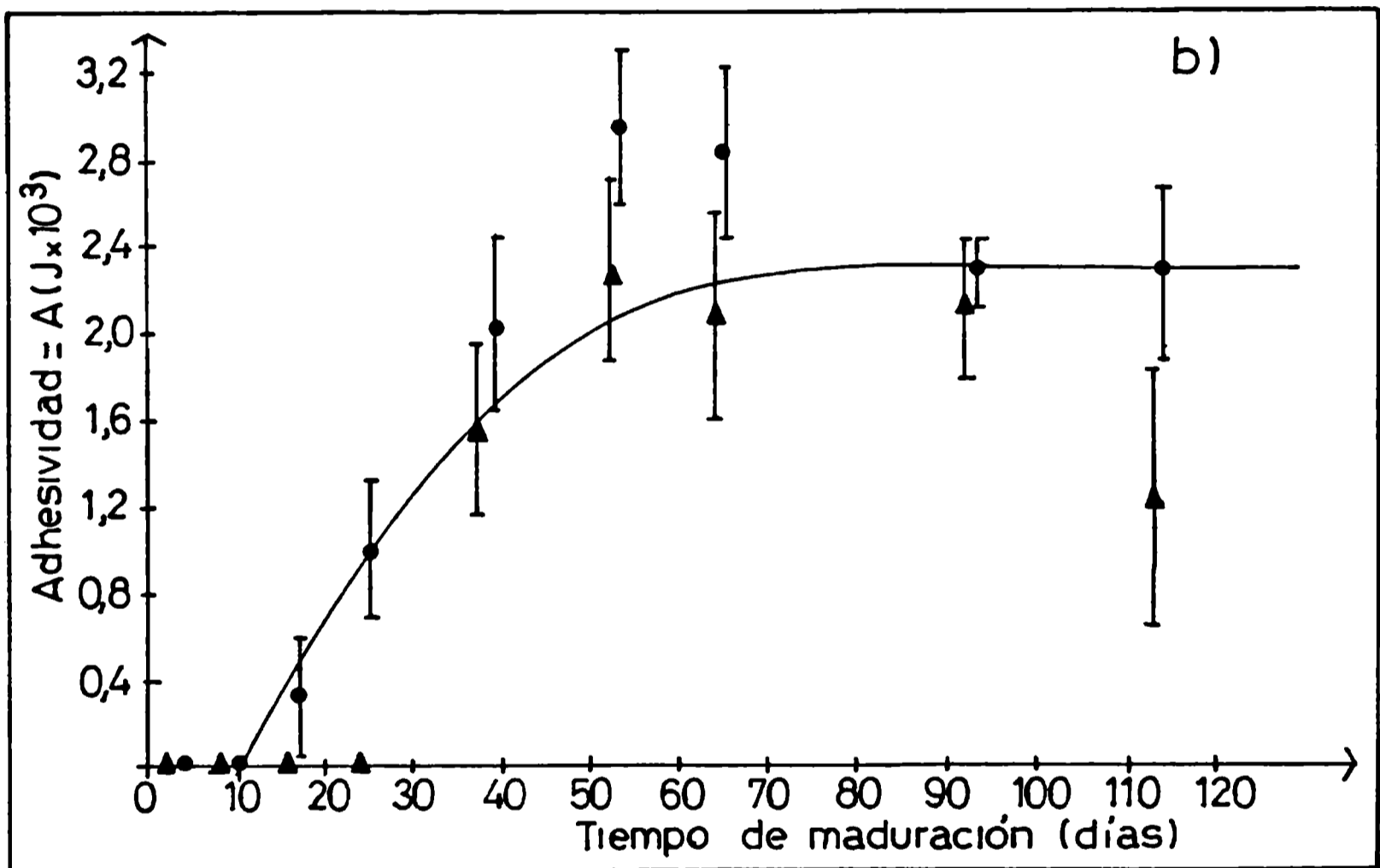


Figura 11 b. Variación de la adhesividad con el tiempo de maduración para el queso Tybo. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

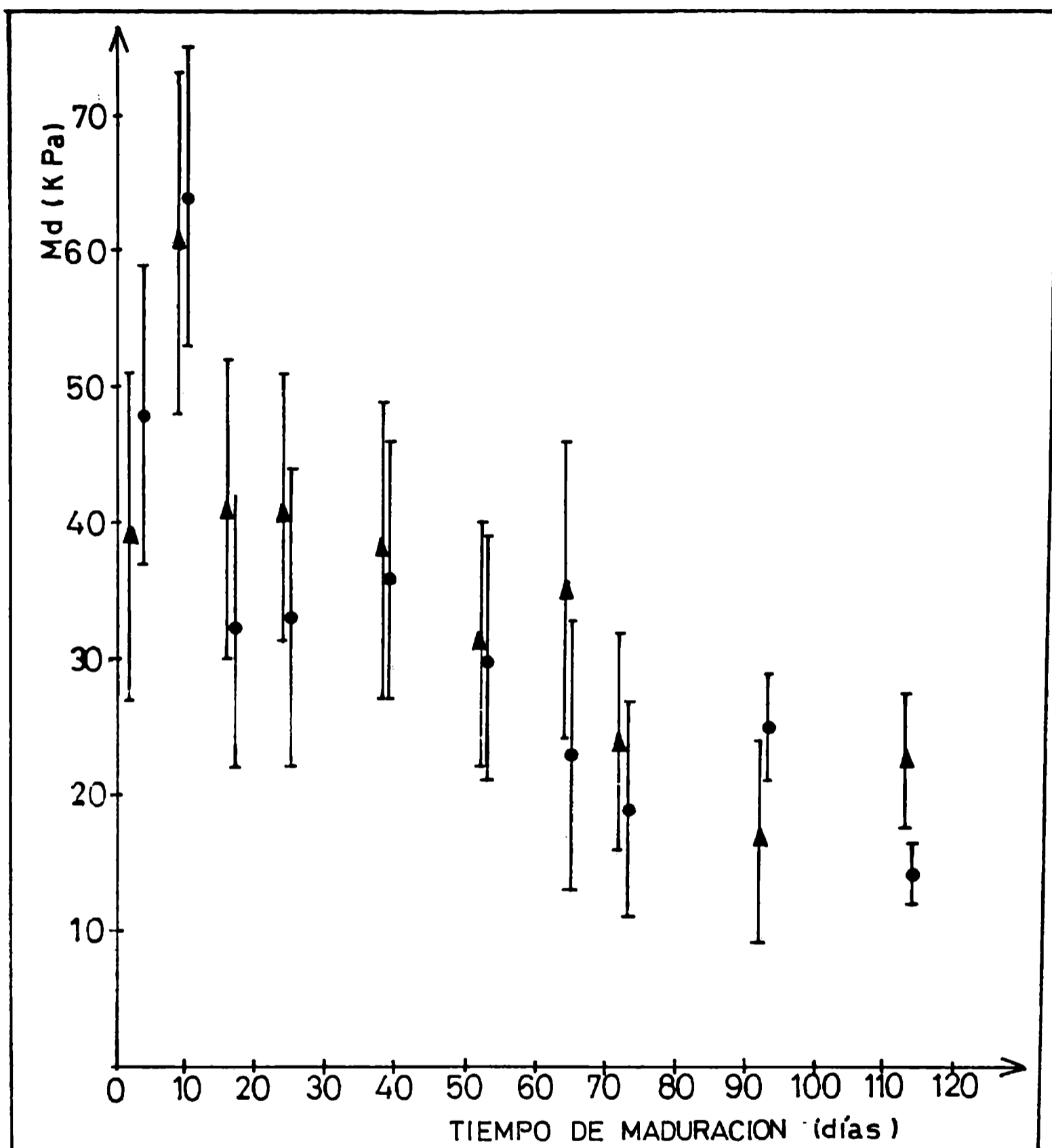


Figura 12. Efecto del tiempo de maduración sobre el módulo de deformabilidad (Md) para queso Tybo Argentino. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

4.3.2. Ensayos de relajación.

Los ensayos de relajación consisten en someter al alimento a una deformación constante, analizándose durante un período de tiempo determinado la variación de tensión.

Para describir la respuesta de los alimentos sólidos a la aplicación de una fuerza externa, se utilizan modelos mecánicos. Estos modelos se componen de dos elementos simples que pueden ser combinados en una variedad de formas, para representar el comportamiento reológico de materiales complejos. Dichos elementos son: el elemento elástico ideal, que se representa por un resorte y el elemento viscoso ideal o newtoniano que se representa por un amortiguador, en el que el pistón se mueve dentro de un líquido newtoniano (Peleg, 1980; Fiszman y col., 1983 a).

Dentro de los modelos mecánicos, algunos de los más usados son el modelo de Maxwell y el modelo de Maxwell Generalizado (Peleg y Calzada, 1976; Mitchel, 1976).

Modelo de Maxwell

Un cuerpo viscoelástico debe contener un elemento viscoso y un elemento elástico.

Si F es la fuerza aplicada a un elemento elástico y u es el desplazamiento $F = E u$. Derivando respecto al tiempo se obtiene:

$$\frac{du}{dt} = \frac{1}{E} \frac{dF}{dt} \quad (9)$$

donde E es la constante del resorte (análogo al módulo de elasticidad).

Para el elemento viscoso $F = \eta \, du/dt$ donde η es la viscosidad del fluido, que refleja la fricción interna.

Si estos elementos se combinan en serie forman el modelo de Maxwell (Fig. 13), los dos elementos están sufriendo el mismo esfuerzo para distinta deformación. Esta es igual a la suma de las deformaciones de los dos elementos. La ecuación que establece la relación entre fuerza y desplazamiento es:

$$\frac{du}{dt} = \frac{1}{E} \frac{dF}{dt} + \frac{1}{\eta} F \quad (10)$$

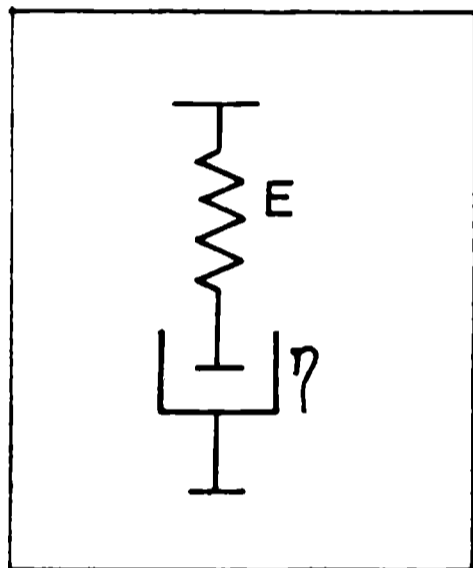


Figura 13. Esquema del modelo de Maxwell.

Considerando que en los ensayos de relajación $du/dt = 0$ e integrando esta ecuación con $F = F_0$ para $t = 0$ resulta una ecuación exponencial de la forma:

$$F = F_0 \exp (-t/\zeta) \quad (11)$$

donde ζ denominado tiempo de relajación, representa la rapidez con que el cuerpo se relaja. Si se dividen los dos miembros de la ecuación anterior por el área de compresión a , resulta:

$$\sigma = \sigma_0 \exp(-t/\tau) \quad (12)$$

donde σ es la tensión aplicada. Dado que $\sigma = E \epsilon$ con ϵ representando la deformación relativa resulta:

$$E = E_0 \exp(-t/\tau). \quad (13)$$

Modelo de Maxwell generalizado

Este modelo que ha sido usado frecuentemente para representar el fenómeno de relajación en diversos materiales viscoelásticos como geles, frutas y vegetales (Mitchel, 1976; Peleg y Calzada, 1976; Peleg, 1979; Fiszman y col, 1983 b), está representado por un infinito número de elementos de Maxwell colocados en paralelo y en algunos casos también puede aparecer un elemento elástico (resorte) en paralelo a los otros elementos (Fig. 14). De esta forma se refleja el hecho de que la mayoría de los materiales viscoelásticos, incluyendo los materiales biológicos no se relajan siguiendo una velocidad uniforme sino que lo hacen en distintas etapas con tiempos de relajación diferentes (Fiszman y col., 1983 a).

Si se somete este modelo a una deformación constante ϵ , el esfuerzo total es la suma de los esfuerzos soportados por cada elemento de Maxwell y su decaimiento con el tiempo sigue una ecuación de la forma:

$$F(t) = F_{\infty} + \sum_{n=1}^n F_n \exp(-t/\tau_n) \quad (14)$$

Teniendo en cuenta que la tensión es $\sigma = F/A = E \epsilon$, se puede expresar el decaimiento de la tensión como:

$$\sigma(t) = \sigma_{\infty} + \sum_{n=1}^n \sigma_1 \exp(-t/\tau_1) = \epsilon [E_{\infty} + \sum_{n=1}^n E_1 \exp(-t/\tau_1)] \quad (15)$$

donde E_{∞} es el módulo de elasticidad de equilibrio y corresponde en este modelo al elemento elástico puro.

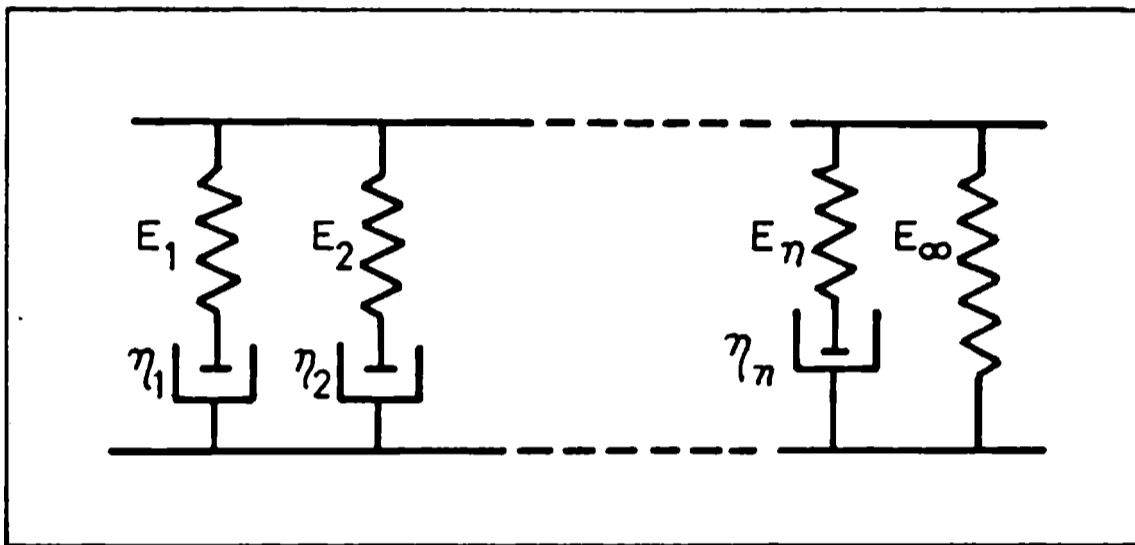


Figura 14. Esquema del modelo de Maxwell generalizado.

A partir de este modelo se puede estudiar el comportamiento reológico de materiales viscoelásticos y calcular los parámetros que los caracterizan, utilizando ensayos de relajación. Modelando matemáticamente los datos obtenidos se puede obtener una ecuación de la siguiente forma:

$$F^*(t) = F(t) / F_0 = A_{\infty} + \sum_{n=1}^n A_1 \exp(-t/\tau_1) \quad (16)$$

donde $F(t)$ es la fuerza instantánea durante el tiempo de relajación, F_0 su valor inicial antes del decaimiento de la tensión, A_1 son coeficientes que dependen de las propiedades viscoelásticas

del material y los ζ_1 los tiempos de relajación.

A partir de los coeficientes de la regresión A_1 se pueden obtener los módulos elásticos de los distintos elementos de acuerdo a:

$$E_1 = \frac{A_1 F_0}{\epsilon a} \quad \text{con } i = 1, 2, \dots, \infty \quad (17)$$

Los valores de viscosidad (η_1) del líquido en el amortiguador de cada elemento se pueden relacionar con los coeficientes de viscosidad, de acuerdo a Kfoury y col (1989) de la siguiente forma:

$$\eta_1 = E_1 \zeta_1 \quad (18)$$

Masi y Addeo (1986) utilizaron esta técnica informando algunas propiedades reológicas en ciertos quesos italianos. Recientemente Kfoury y col. (1989) la han utilizado para estudiar el comportamiento de quesos Camembert y Saint Paulin durante la maduración.

Ajuste de las curvas de relajación

Para los dos tipos de quesos con los cuales se trabajó el modelo con el que se lograba el mejor ajuste a las curvas experimentales resultó ser el de Maxwell generalizado, compuesto por un elemento elástico puro y dos elementos maxwellianos en paralelo.

A partir de las ecuaciones (17) y (18) se calcularon los módulos elásticos y las viscosidades para los distintos tiempos de

maduración. Para dichos cálculos se utilizó la deformación relativa verdadera.

4.3.2.1. Queso Port Salut

En la Fig. 15 son mostradas las curvas de relajación obtenidas a distintos tiempos de maduración.

Los coeficientes A_1 , A_2 y A_∞ y los tiempos de relajación ζ_1 y ζ_2 fueron calculados a partir del modelo propuesto y sus valores conjuntamente con los errores correspondientes son mostrados en la Tabla 6. Estos datos fueron usados para calcular los módulos elásticos y viscosidades, los cuales disminuyeron a lo largo de la maduración alcanzando valores constantes a los 25 días de almacenamiento.

Los parámetros que mostraron los mayores cambios fueron E_∞ y η_2 (viscosidad del elemento con mayor tiempo de relajación), dicha variación puede observarse en la Fig. 16 a, b.

4.3.2.2. Queso Tybo

En la Fig. 17 son mostradas las curvas de relajación teóricas (ec. 16) y experimentales obtenidas para dos tiempos de maduración.

A partir de los valores de A_1 , A_2 , A_∞ , ζ_1 y ζ_2 (Tabla 7) se calcularon los módulos elásticos y viscosidades, que al igual que en el queso Port Salut, disminuyeron a lo largo de la maduración alcanzando valores aproximadamente constantes a los 70 días. En la Fig. 18 a, b se muestran las variaciones de E_∞ y η_2 con el tiempo de maduración ya que estos presentan los mayores cambios.

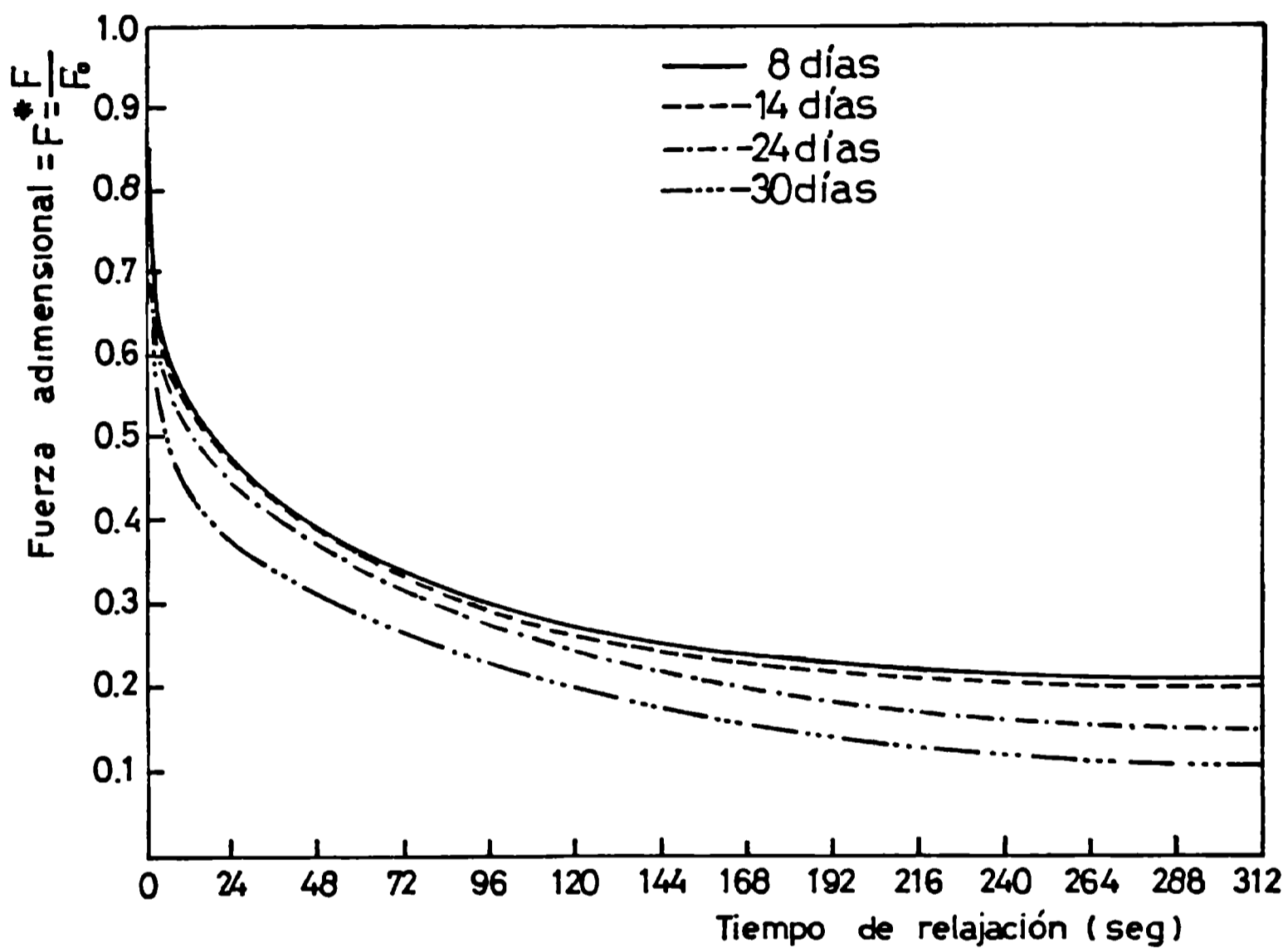


Figura 15. Curvas de relajación para muestras de queso Port Salut con diferentes períodos de maduración.

Tabla 6. Parámetros del modelo de Maxwell generalizado obtenidos a partir de las curvas de relajación para queso Port Salut. Los errores en las constantes se indican entre paréntesis.

tiempo(días)	A_{∞}	A_1	A_2	$\tau_1(\text{seg})$	$\tau_2(\text{seg})$
8	0.211 (0.010)	0.401 (0.011)	0.388 (0.010)	2.942 (0.254)	64.754 (3.705)
10	0.203 (0.004)	0.391 (0.004)	0.406 (0.004)	2.891 (0.099)	85.638 (2.192)
14	0.187 (0.008)	0.416 (0.008)	0.406 (0.008)	3.294 (0.183)	80.743 (3.283)
21	0.128 (0.008)	0.425 (0.008)	0.429 (0.008)	3.521 (0.228)	104.246 (5.667)
24	0.144 (0.007)	0.443 (0.008)	0.413 (0.007)	2.693 (0.172)	82.966 (4.208)
29	0.200 (0.006)	0.427 (0.007)	0.373 (0.006)	2.341 (0.122)	62.079 (2.750)
30	0.088 (0.009)	0.552 (0.009)	0.360 (0.010)	3.628 (0.224)	100.229 (6.468)
42	0.134 (0.011)	0.546 (0.012)	0.320 (0.010)	3.544 (0.235)	86.481 (7.862)

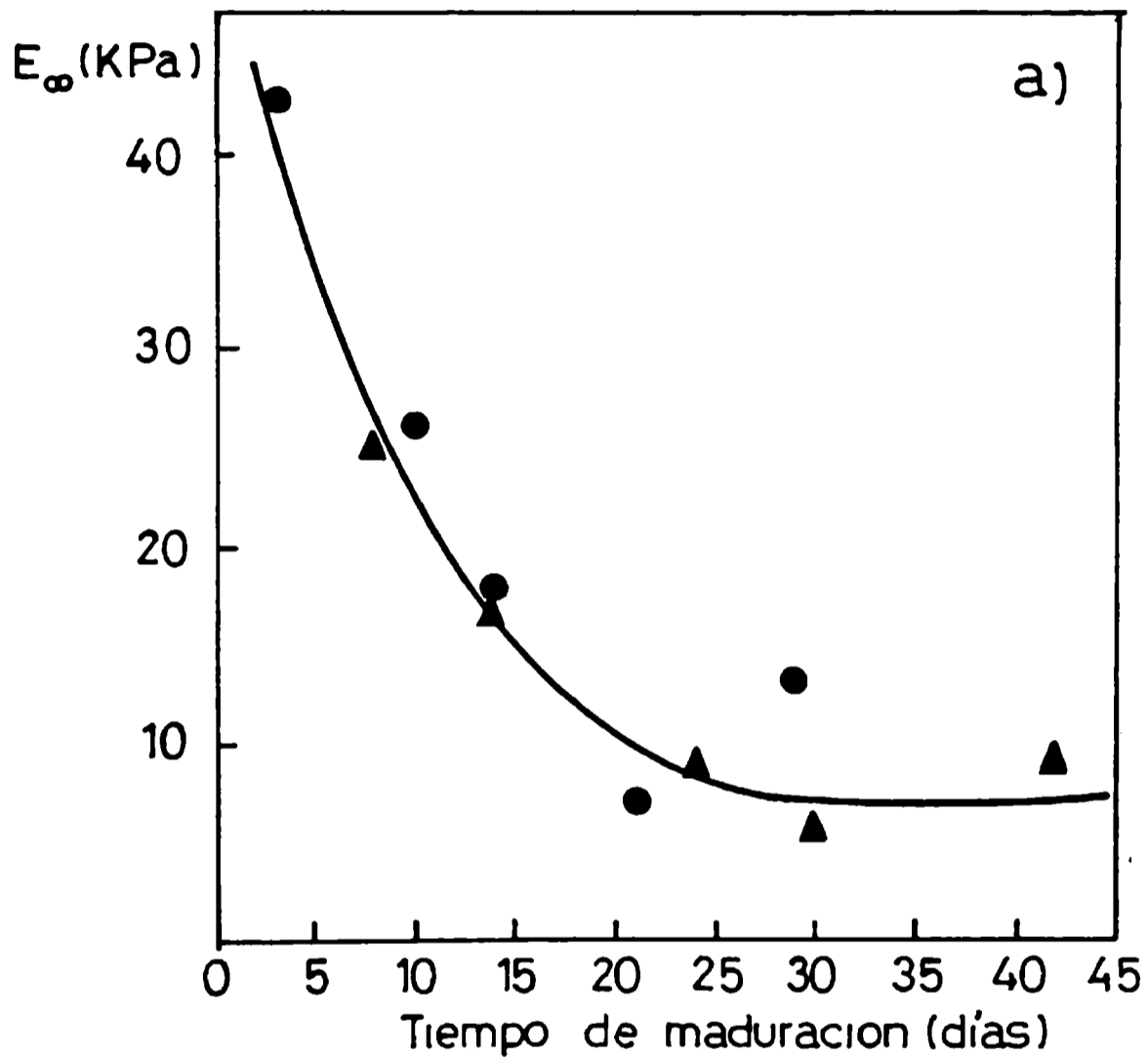


Figura 16 a. Efecto del tiempo de maduración sobre el módulo elástico de equilibrio (E_{∞}) para queso Port Salut con humedades entre 51-52%. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso.

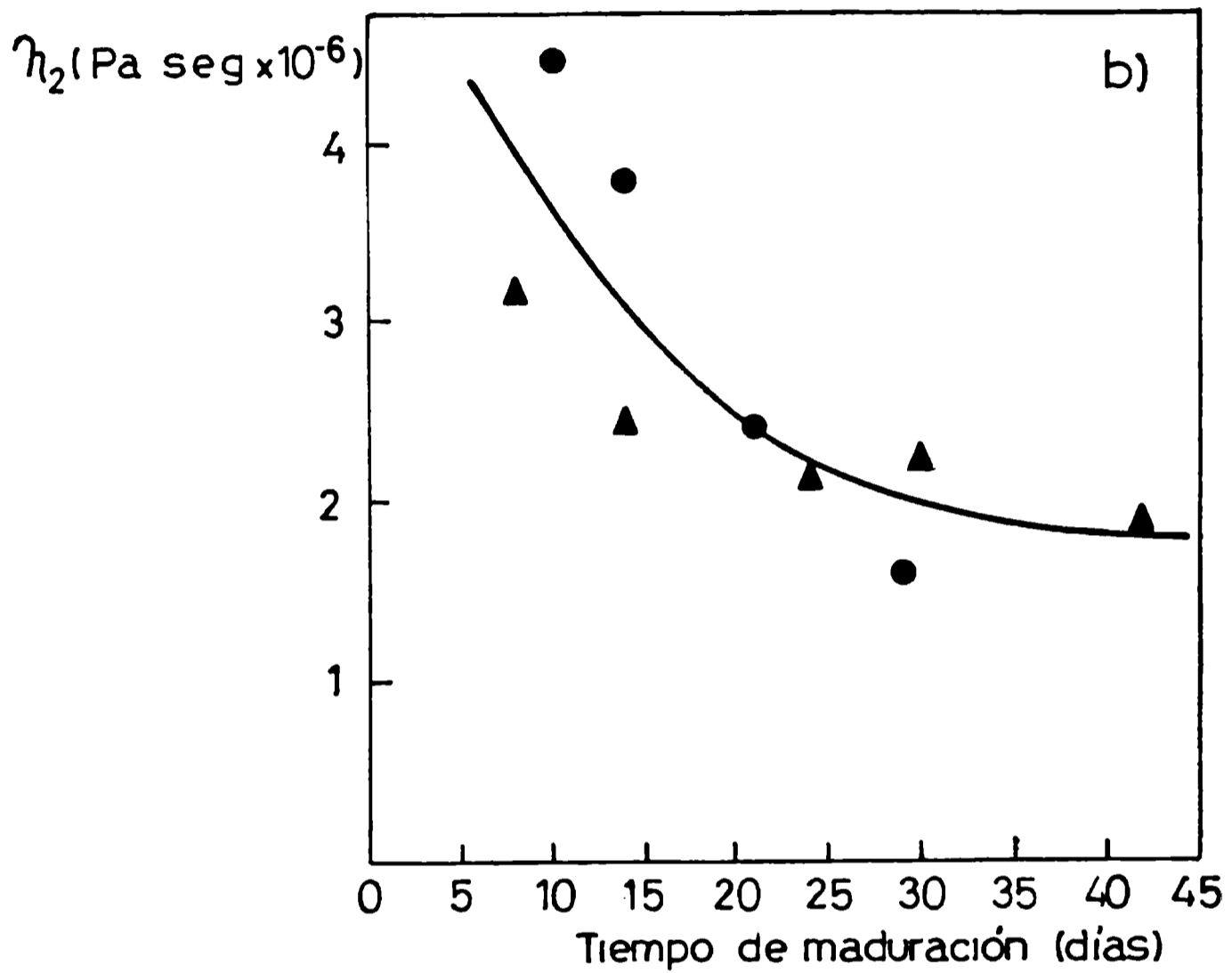


Figura 16 b. Efecto del tiempo de maduración sobre la viscosidad correspondiente al elemento maxwelliano con mayor tiempo de relajación para queso Port Salut con humedades entre 51-52%. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso.

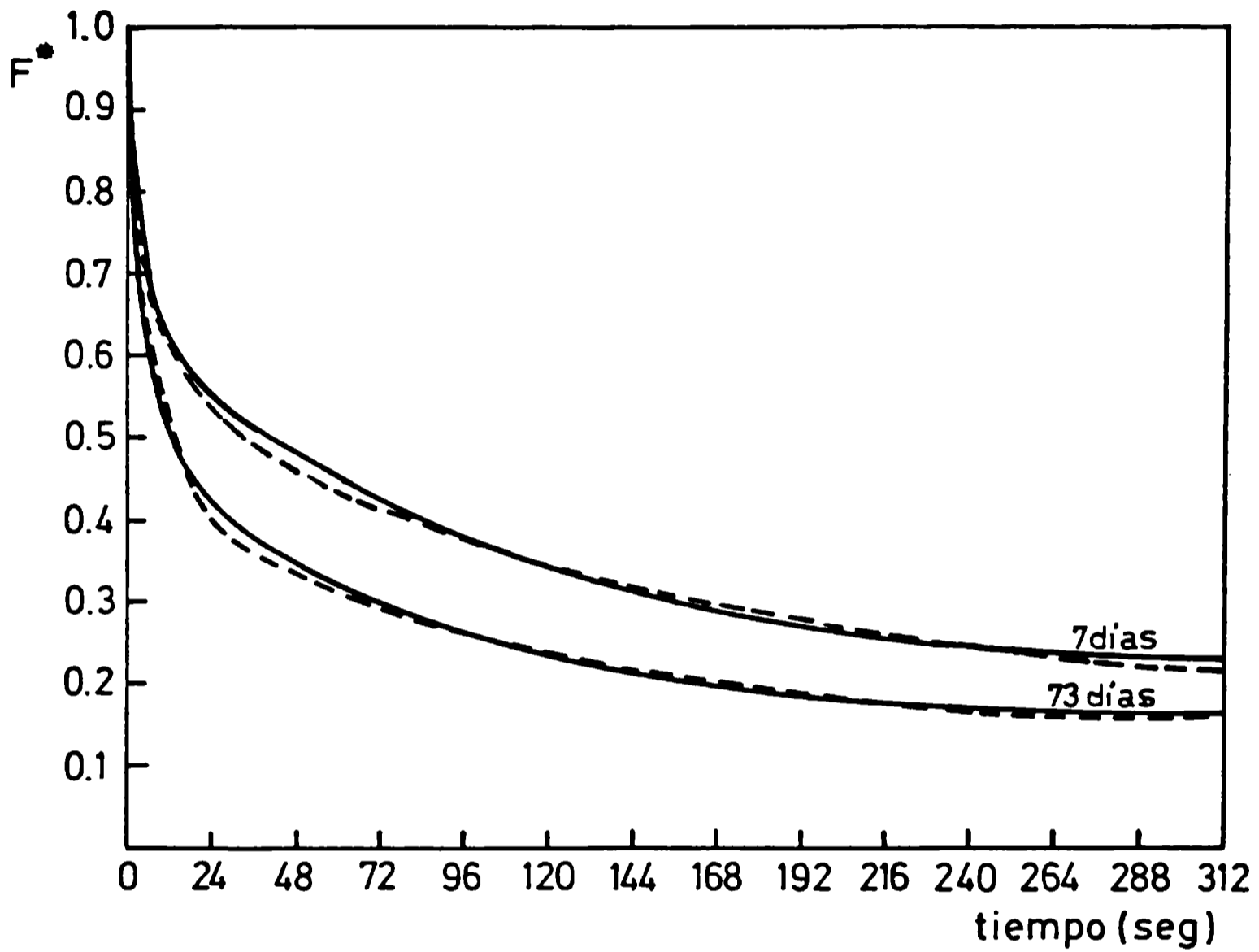


Figura 17. Curvas de relajación para dos muestras de queso Tybo con distintos tiempos de maduración.

(----) curva experimental

(—) curva teórica

Tabla 7. Coeficientes correspondientes a la ecuación de Maxwell para el queso Tybo. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estandar

tiempo (días)	A_{∞}	A_1	τ_1 (seg)	A_2	τ_2 (seg)
3	0.243 (0.009)	0.348 (0.014)	4.094 (0.419)	0.403 (0.009)	103.906 (8.054)
4	0.207 (0.011)	0.359 (0.017)	4.062 (0.506)	0.427 (0.011)	103.427 (9.334)
9	0.275 (0.014)	0.319 (0.024)	4.223 (0.752)	0.399 (0.012)	96.066 (14.411)
10	0.264 (0.006)	0.353 (0.008)	4.126 (0.383)	0.376 (0.008)	98.102 (5.069)
16	0.210 (0.010)	0.376 (0.018)	4.367 (0.515)	0.405 (0.012)	107.833 (9.690)
17	0.109 (0.023)	0.389 (0.026)	3.933 (0.661)	0.496 (0.019)	124.499 (10.755)
24	0.207 (0.007)	0.373 (0.011)	4.248 (0.305)	0.413 (0.007)	102.983 (6.296)
38	0.199 (0.009)	0.402 (0.021)	3.694 (0.449)	0.392 (0.013)	67.819 (6.795)
39	0.198 (0.005)	0.402 (0.008)	3.204 (0.195)	0.395 (0.005)	86.726 (4.136)
52	0.187 (0.008)	0.401 (0.010)	4.201 (0.283)	0.405 (0.008)	101.627 (6.657)
53	0.165 (0.007)	0.392 (0.013)	3.284 (0.276)	0.437 (0.008)	84.886 (5.216)
64	0.216 (0.010)	0.429 (0.015)	5.655 (0.455)	0.338 (0.010)	91.895 (10.093)
65	0.218 (0.009)	0.471 (0.017)	4.645 (0.390)	0.300 (0.012)	81.938 (9.693)
72	0.167 (0.011)	0.454 (0.017)	5.018 (0.760)	0.362 (0.021)	80.704 (12.125)
73	0.157 (0.014)	0.479 (0.032)	5.185 (0.858)	0.344 (0.025)	79.547 (15.528)
92	0.183 (0.009)	0.502 (0.025)	5.616 (0.444)	0.292 (0.016)	75.127 (7.670)
93	0.139 (0.011)	0.536 (0.045)	4.809 (0.920)	0.308 (0.042)	56.707 (13.397)
113	0.133 (0.023)	0.472 (0.030)	6.841 (0.962)	0.365 (0.020)	126.813 (25.522)
114	0.156 (0.016)	0.509 (0.056)	4.705 (1.184)	0.320 (0.049)	58.018 (17.794)

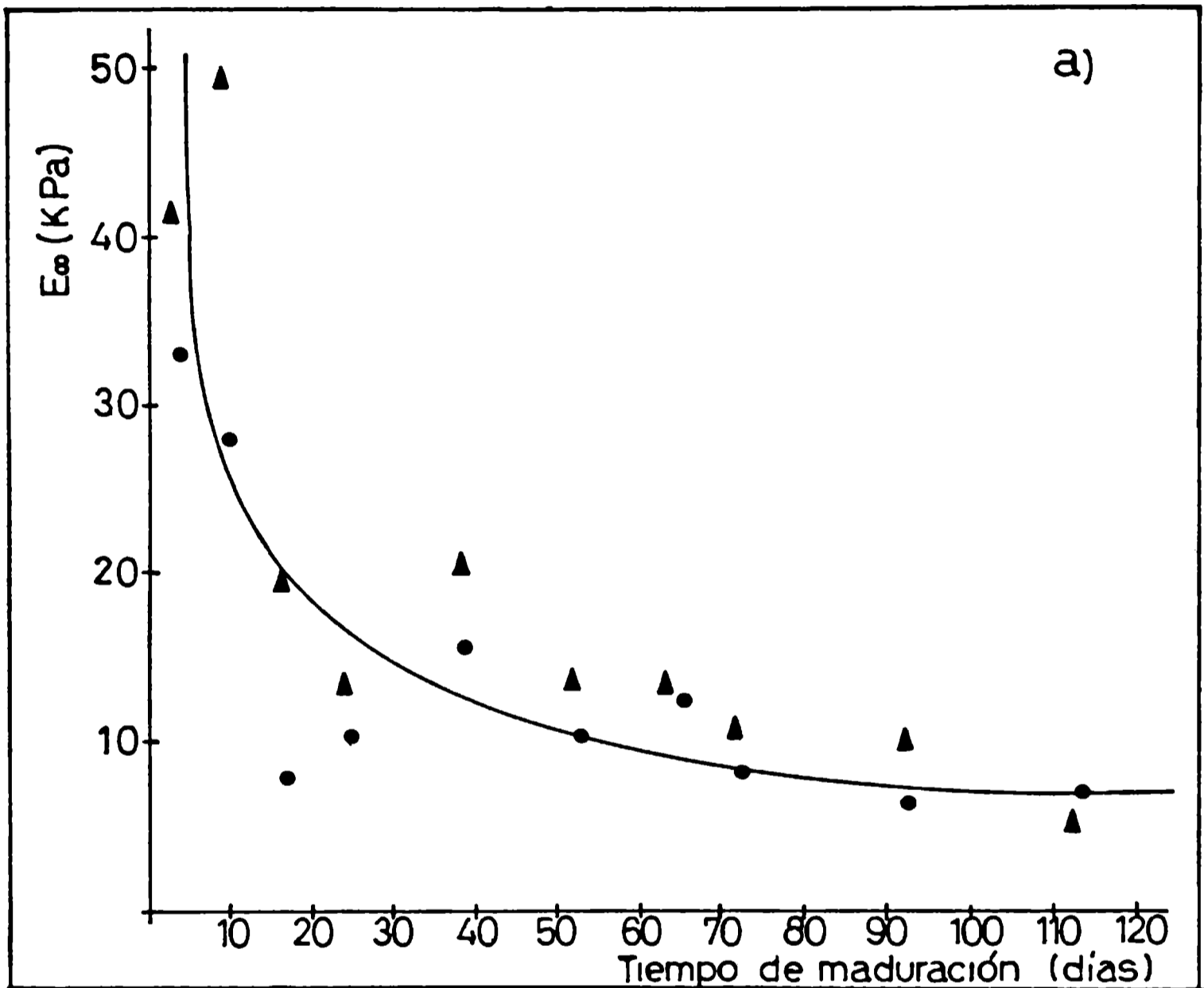


Figura 18 a. Efecto del tiempo de maduración sobre el módulo elástico de equilibrio (E_{∞}) para queso Tybo. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso.

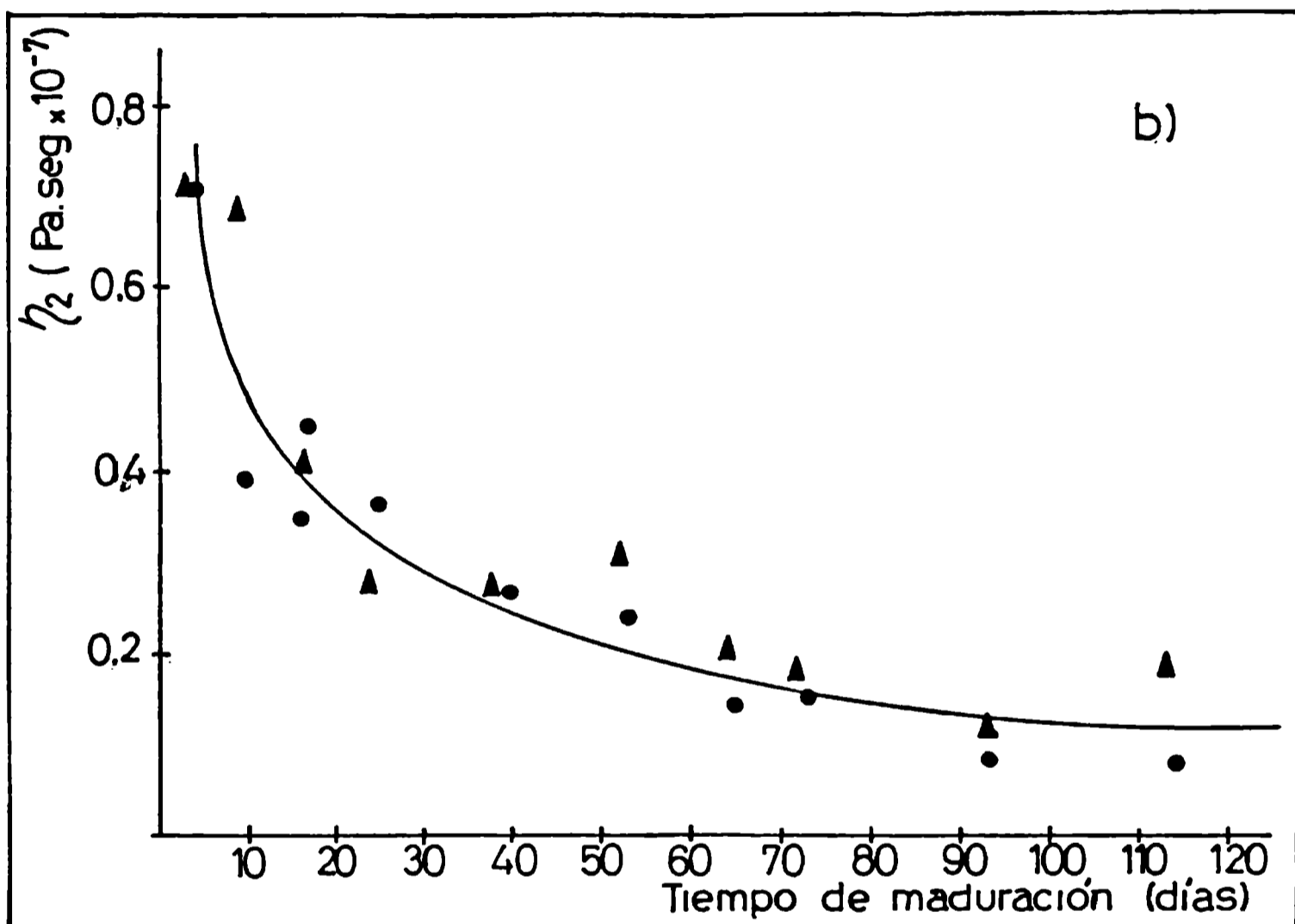


Figura 18 b. Efecto del tiempo de maduración sobre la viscosidad correspondiente al elemento maxwelliano con mayor tiempo de relajación para queso Tybo. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso.

Interpretación física de las curvas de relajación

Cuando el módulo elástico decrece, el queso se vuelve más elástico. Un alto valor de viscosidad y bajo módulo de elasticidad correlacionan con un queso duro y elástico, mientras que si el módulo elástico y la viscosidad son altos el queso es duro pero no elástico. De acuerdo con Sherman (1976), la dureza puede ser correlacionada con el coeficiente de viscosidad. Dicha relación es mostrada en la Fig. 19 donde puede observarse que la dureza, que decrece durante la maduración, correlaciona con la disminución de la viscosidad η_2 . De acuerdo a estos resultados y sumado a los bajos valores del módulo elástico E_∞ , el queso maduro resulta ser más blando y elástico que el no madurado.

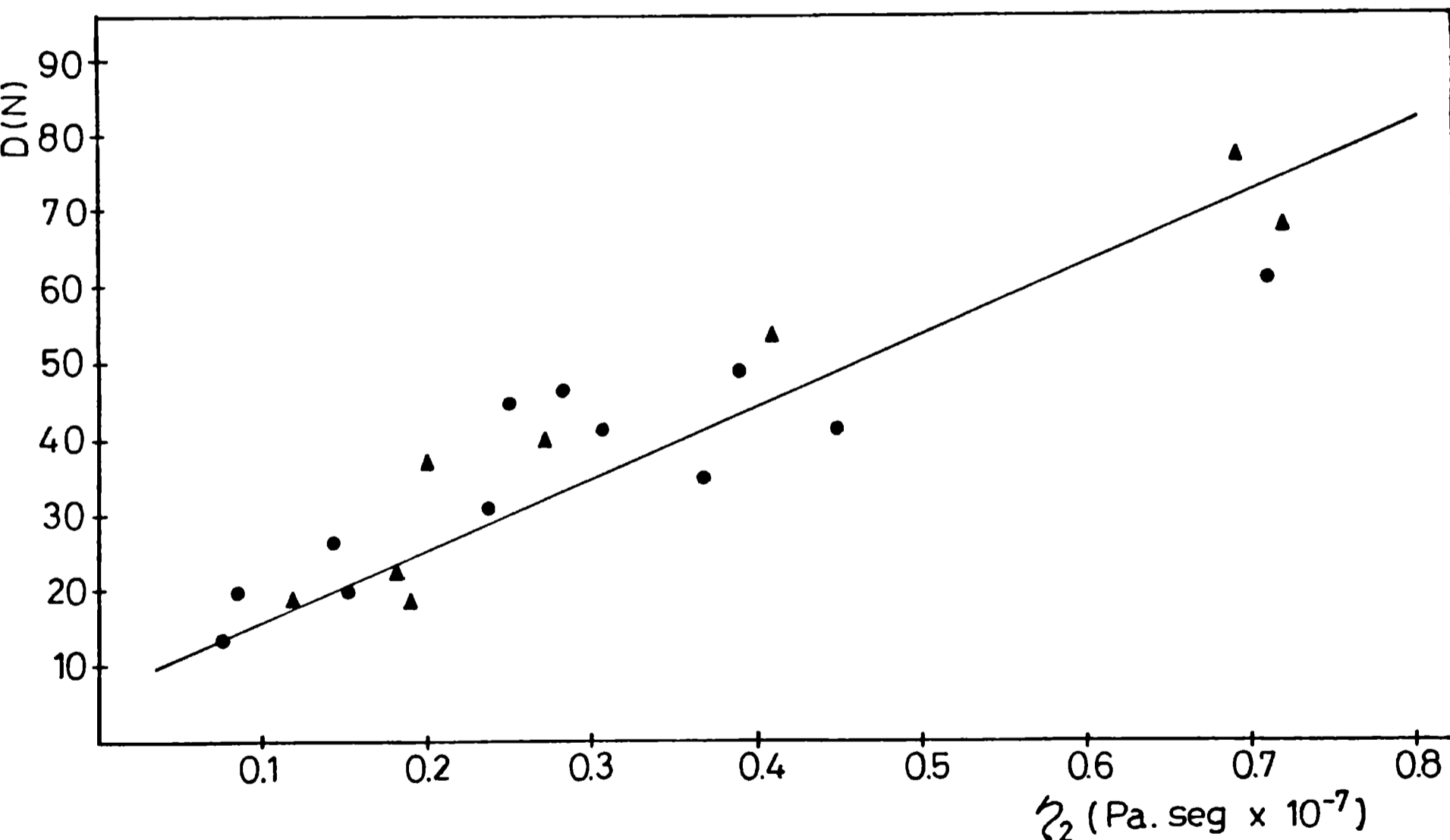


Figura 19. Regresión lineal entre la dureza y la viscosidad η_2 para queso Tybo. Coeficiente de correlación $r = 0.924$. Cada símbolo corresponde a una distinta partida de queso.

CAPITULO 5

PROTEOLISIS

5.1. INTRODUCCION

Todos los quesos tienen tres constituyentes principales: caseína, grasa y agua; los que contribuyen a la estructura y por lo tanto a las propiedades reológicas en forma específica. La caseína forma una estructura similar a una malla abierta, en la cual es atrapada la grasa (glóbulos provenientes de la leche). Parte del agua, que contiene normalmente sal disuelta, está particularmente ligada a la proteína, y la restante rellena los intersticios entre la matriz de la caseína y la grasa (Prentice, 1987).

La estructura del queso esta determinada por la disposición espacial de sus componentes (en especial la caseína) y la textura es, en esencia, la manifestación externa de su estructura interna (Lawrence y col., 1983).

Durante la manufactura y maduración la estructura interna puede ser modificada por tratamientos mecánicos y térmicos y por acción de bacterias y enzimas residuales. Estos cambios de la estructura interna son reflejados en modificaciones texturales.

Las proteínas y especialmente la caseína, constituyen los componentes que juegan el rol más importante en la maduración de los quesos. Por acción del cuajo, la caseína pasa a paracaseína, lo que constituye el comienzo del conjunto de transformaciones de que luego va a ser objeto por acción de las enzimas de procedencia microbiana y las aportadas por el cuajo y la leche cruda.

Durante la maduración, la mayoría de las proteasas actúan sobre la α_{s1} caseína hidrolizándola. Su influencia en el queso así como la extensión de la hidrólisis varía de acuerdo al tipo y edad del queso y a la calidad bacteriológica de la leche.

Aunque casi siempre la α_{s1} caseína es la primera en ser hidrolizada y generalmente es la más extensamente degradada, también la β caseína puede sufrir el ataque de las proteasas del cuajo o de las nativas de la leche, formando péptidos de menor peso molecular.

Estos cambios producidos sobre las fracciones α y β caseínicas pueden ser definidos como una proteólisis primaria, que principalmente es debida a la acción de las proteasas del cuajo y de las nativas de la leche; mientras que las enzimas de los fermentos lácticos tienen mayor importancia en la fase secundaria de la proteólisis liberando péptidos y aminoácidos, que son solubles en la fase acuosa del queso. La importancia de esta fracción soluble en agua es la de constituir un conjunto de compuestos precursores para el desarrollo del flavor (Visser, 1981; Rank y col., 1985; Lawrence y col., 1987).

Dado que las características típicas de textura y sabor en la mayoría de las variedades de queso están relacionadas con los productos de degradación de las proteínas, estos productos son usados como indicadores del proceso de proteólisis y por lo tanto del desarrollo de la maduración (Reville y Fox, 1978; Aston y col., 1983). Sin embargo, como el afinado es un proceso extremadamente complejo, no existe aún un sistema único para medir su desarrollo. Se suele determinar además de la fracción soluble en agua la fracción soluble en ácido tricloroacético al 12% que constituye el nitrógeno no proteico.

También se puede estudiar el contenido en aminoácidos libres del queso madurado, que varía en cantidad y distribución en cada tipo o variedad de queso y constituye en los de pasta dura un factor de calidad fundamental (Dilanjan, 1984).

El objetivo del presente capítulo es analizar la proteólisis ocurrida durante la maduración del queso y establecer las relaciones existentes entre dichas modificaciones proteicas que alteran la microestructura y el comportamiento reológico de los quesos.

5.2. MATERIALES Y METODOS

5.2.1. Muestreo

De cada queso se cortó una muestra de la parte central, la que fue triturada y mezclada adecuadamente, tomándose alícuotas para cada determinación.

5.2.2. Determinaciones fisicoquímicas

La humedad fue determinada por duplicado en estufa de vacío a 80°C hasta peso constante. Se la expresó como peso de agua por 100 g de queso.

El pH fue medido directamente en el queso usando un electrodo de inserción (INGOLD LOT 406-M4, Urdorf, Zurich, Suiza).

5.2.3. Determinación de nitrógeno

El nitrógeno total incluye por un lado el nitrógeno proveniente de las proteínas y por el otro lado al nitrógeno no proteico.

Los compuestos nitrogenados solubles están formados solamente por la fracción que es soluble en solución acuosa y que resulta de la acción de proteasas, peptidasas, decarboxilasas que hidrolizan a las paracaseínas dicálcicas (que son insolubles) a paracaseína libre y luego a peptonas, péptidos y aminoácidos, siendo todos estos compuestos solubles en agua (Kosikowski, 1982). Parte de esta heterogénea fracción es el nitrógeno no proteico que es soluble en TCA al 12% y está compuesto por aminoácidos y péptidos con peso molecular < 2000.

Las determinaciones de nitrógeno fueron llevados a cabo por duplicado siguiendo el método de Kjeldahl, utilizando un equipo Büchi compuesto por un digestor modelo 425 y una unidad para destilación de nitrógeno modelo 320 (Büchi Laboratoriums - Technik AG, Flawil, Suiza).

5.2.3.1. Determinación de nitrógeno total

Un peso fijo de aproximadamente 1.5 g fue digerido por calentamiento en ácido sulfúrico concentrado con un catalizador compuesto por sulfato de sodio anhidro y sulfato de cobre en relación 10/1. La solución fue alcalinizada con hidróxido de sodio al 30% y posteriormente destilada. El amoníaco liberado fue recogido sobre un volumen conocido (100 ml) de solución de ácido clorhídrico 0.1 N, destilándose hasta lograr un volumen de 250 ml. El ácido remanente fue determinado titulando con hidróxido de sodio 0.1 N, utilizando un indicador mixto compuesto por rojo de metilo y verde de bromocresol.

La concentración de nitrógeno se expresó como g de nitrógeno por 100 g de queso y se calculó según la siguiente fórmula:

$$NT = (V_{ClH} N_{ClH} - V_{OHNa} N_{OHNa}) \text{ meq. N } 100 / \text{ peso de muestra}$$

Para calcular la concentración de proteína total se multiplicó el valor obtenido para nitrógeno total por 6.38, que es el factor que transforma el contenido de nitrógeno a proteína para productos lácteos.

5.2.3.2. Determinación de Nitrógeno soluble

Las determinaciones de nitrógeno soluble se llevaron a cabo utilizando el método del Manual Oficial para el Análisis Bromato-

lógico (1972).

Se tomaron aproximadamente 10 g de la muestra de queso, se desecaron en estufa de vacío a 80°C, se sometieron a la acción del agua por 15 hs a temperatura ambiente en un matraz aforado de 500 ml. Pasado el tiempo establecido se llevó a volumen con agua y se filtró. A 100 ml del líquido filtrado se le determinó nitrógeno procediendo de igual modo que para nitrógeno total, recogiendo sobre 50 ml de HCl 0.1N y destilando hasta lograr un volumen de 200 ml. Para los cálculos se tuvo en cuenta que los 100 ml de líquido filtrado correspondían a 1/5 de la muestra utilizada.

5.2.3.3. Determinación de Nitrógeno no proteico

Para las determinaciones de nitrógeno no proteico se utilizó el método de la A.A.C.C. (1983) modificado adecuadamente para que se cumplan las condiciones del ensayo requeridos en quesos.

Se tomaron 10 g de muestra y se homogeneizaron con 40 ml de buffer acético-acetato, que se preparó disolviendo 8.2 g de acetato de sodio anhidro con 6 ml de ácido acético glacial y llevando el volumen a 1 l.

El homogenado se dejó en baño de agua con agitación a 45°C durante 1 h. Al término de dicho tiempo se le incorporó 10 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 60 %, para obtener una concentración final de ácido del 12 % que provocaba la precipitación de las proteínas. Sobre 25 ml del líquido filtrado se determinó nitrógeno por Kjeldahl, recogiendo el destilado sobre 50 ml de HCl 0.1 N y destilando hasta un volumen de 200 ml.

Para los cálculos se tuvo en cuenta que los 25 ml del líquido filtrado correspondían a 1/2 del peso de la muestra de queso utilizado.

5.2.4. Determinación de caseínas

5.2.4.1. Extracción de las caseínas

Se utilizó como solución de extracción urea 8 M, pH = 8 ya que esta concentración de urea posibilitaba la solubilización de las caseínas. Para determinar el tiempo de extracción necesario para la completa solubilización de las caseínas se realizaron dos experiencias con dos tiempos diferentes que fueron 2 y 24 hs. Después de transcurrido el mismo se analizó la concentración de proteínas totales en las dos soluciones. La concentración de proteínas se determinó por el método de Lowry y col. (1951), obteniéndose la curva de calibración a partir de una solución de albúmina bovina. Los resultados obtenidos mostraron que las concentraciones eran similares en ambos casos, por lo que se estableció que el tiempo de extracción fuese de 2 hs.

Las muestras fueron tomadas a los tiempos de muestreo preestablecidos y almacenadas a -60°C hasta su utilización (Creamer y Olson, 1982). Se prepararon dispersando el queso en solución de urea 8 M, en la proporción de 25 ml de solución por cada 0.6 g de muestra, durante 2 hs con agitación para facilitar el proceso de extracción (Ledford y col., 1966; Morr, 1971; Marcos y col., 1978). A fin de que la grasa no interfiera en el filtrado de la solución, se mantuvo la temperatura a 37°C durante la extracción, de esta forma la grasa asciende hasta el tope del líquido.

5.2.4.2. Electroforesis

Las especies proteicas fueron analizadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Se utilizaron placas (140 x 180 x 0.7 mm) de gel de poliacrilamida al 15% con agregado de dodecil sulfato de sodio (SDS), de acuerdo al sistema de buffer

discontinuo de Laemmli (Laemmli, 1970; Laemmli y Fabre, 1973; Madkor y col., 1987). Las corridas electroforéticas se realizaron en un equipo para electroforesis en gel Pharmacia GE - 214 (Upsala, Suecia).

5.2.4.2.1. Soluciones utilizadas

a) Solución madre de acrilamida - bisacrilamida: acrilamida 30%, bisacrilamida 0.8% en agua destilada. (Bisacrilamida = N,N', metilenbisacrilamida).

b) Solución buffer para el gel apilador (stacking): Tris 0.5 M, SDS 0.4%, TEMED 0.4%, HCl 1N hasta pH = 6.8. (Tris = hidroximetil aminometano, TEMED = N, N, N',N' tetrametiletildiamina).

c) Solución buffer para el gel separador: Tris 1.5 M, SDS 0.4%, TEMED 0.4%, HCl hasta pH = 8.8.

d) Solución buffer de corrida: Tris 0.05 M, glicina 0.384 M, SDS 0.35%, HCl 1 N hasta pH = 8.3.

e) Solución buffer para preparación de las muestras: urea 8 M, SDS 0.3%, glicerol 10%, azul de bromofenol 0.001%, ME 20 mM, pH = 9. El SDS es un agente desnaturizante y solubilizante de proteínas. Origina con ellas complejos de carga negativa, provocando que la movilidad electroforética dependa solamente del peso molecular de la proteína. El mercaptoetanol (ME) rompe las uniones disulfuro.

f) Solución fijadora: isopropanol 25%, ácido acético 10% en agua destilada.

g) Solución colorante (para coloración por difusión en gel): Coomassie Brilliant Blue R-250 0.02% en solución de ácido acético

al 7.5%.

h) Solución decolorante: metanol 25%, ácido acético 10% en agua destilada.

5.2.4.2.2. Preparación de las placas de poliacrilamida

Las placas del gel se prepararon de acuerdo a la siguiente formulación:

- Gel separador (acrilamida 15%, bisacrilamida 0.27%): 2 volúmenes de solución (a) + 1 volumen de solución (c) + 0.5 volúmenes de agua destilada + 0.5 volúmenes de solución de persulfato de amonio 0.3%

- Gel apilador (stacking) (acrilamida 4%, bisacrilamida 0.1%): 1 volumen de solución (a) + 2 volúmenes de solución (b) + 1.5 volúmenes de glicerol + 2.5 volúmenes de agua destilada + 1 volumen de persulfato de amonio 0.3%

5.2.4.2.3. Preparación de las muestras de proteínas de queso y patrones

En alícuotas de cada una de las soluciones de proteínas, se agregó buffer de muestra (relación 1:2) incubándose a 100°C durante 5 min. Se sembraron entre 30 y 40 μ l de las soluciones obtenidas en cada carril del gel, lo cual corresponde a una siembra de 50 a 100 μ g de proteínas.

Como patrones se utilizaron α_1 y β caseínas (Sigma Chemical Company, St Louis, EEUU) con los que se obtuvieron las curvas de calibración a partir de las soluciones de dichas proteínas, corridas electroforéticamente en las mismas condiciones que las

muestras de proteínas de queso.

5.2.4.2.4. Condiciones de corrida

Como buffer de corrida se utilizó la solución (d) diluida con agua 3.5 veces. El equipo para electroforesis se conectó a una fuente y se reguló la tensión a 60 mv hasta que el frente atravesó el gel de stacking y a partir de allí a 120 mv. El tiempo total de corrida fue de aproximadamente 8 hs.

5.2.4.2.5. Coloración de bandas

Una vez concluidas las corridas, se trataron los geles por inmersión sucesiva en:

- 1) Solución fijadora (f): 2 hs.
- 2) Solución colorante (g): 24 hs.
- 3) Solución decolorante (h): el tiempo suficiente para decolorar las zonas desprovistas de bandas.

5.2.4.2.6. Análisis densitométrico

El análisis densitométrico se llevó a cabo en un densitómetro marca Shimadzu "Dual wave length TLC Scanner CS-910" (Japón) acoplado a un registrador Omega (Standford, EEUU). Las lecturas se efectuaron por transmisión, doble longitud de onda y barrido lineal ($\lambda_{muestra} = 570nm$ y $\lambda_{referencia} = 395nm$).

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Humedad y pH

Durante todo el período de maduración, la humedad de los quesos y su pH permanecieron aproximadamente constantes.

5.3.1.1. Queso Port Salut

El pH para este tipo de queso fue de 5.4 ± 0.3 .

En cuanto al contenido de humedad se trabajó con dos partidas de quesos con 2 humedades diferentes: normal (N) = 51 - 52% y de mayor contenido de agua (M) = 54 - 55%.

5.3.1.2. Queso Tybo

El pH para este queso fue de 5.4 ± 0.4 , mientras que la humedad resultó ser $45 \pm 1.33\%$

5.3.2. Indices de maduración y proteólisis

A distintos tiempos de maduración se calcularon los contenidos de nitrógeno total (NT), soluble (NS) y no proteico (NNP). A partir de los valores de nitrógeno total se calculó el contenido de proteína total presente en el queso.

Dado que los valores de nitrógeno soluble y no proteico dependen del contenido de proteína total del queso, que no fue exactamente igual en todas las partidas utilizadas, se calcularon los índices de maduración y proteólisis que permitieron una mejor visualización de la degradación proteica en el queso a lo

largo de su almacenamiento. El índice de maduración (IM) se calculó como el cociente entre el nitrógeno soluble y el total mientras que el índice de proteólisis (IP) se obtuvo como el cociente entre el nitrógeno no proteico y el total.

5.3.2.1. Queso Port Salut

Los valores de nitrógeno total fueron de $2.63 \pm 0.10\%$ en la partida N y $3.24 \pm 0.10\%$ en la M, de acuerdo a estos valores el contenido de proteína total resultó estar entre $16.80 \pm 0.66\%$ y $20.76 \pm 0.74\%$.

En la tabla 8 se muestran los valores de nitrógeno soluble y no proteico, que como puede observarse aumentaron a lo largo de la maduración. Los valores de IM y IP, calculados a partir de los datos anteriores y que se muestran en la Fig. 20, aumentaron rápidamente durante el primer período, alcanzando un valor máximo alrededor de los 25 días, que a partir de ese momento permaneció aproximadamente constante. El valor alcanzado en ese período por el índice de maduración fue de $29.00 \pm 2.30\%$ siendo $12.00 \pm 2.00\%$ el índice de proteólisis.

5.3.2.2. Queso Tybo

El nitrógeno total tuvo un valor de $3.70 \pm 0.14\%$, obteniéndose un contenido de proteína de $24.02 \pm 0.80\%$, que resultó ser mayor que el encontrado para el otro tipo de queso.

Los valores de nitrógeno soluble y no proteico (Tabla 9) aumentaron a lo largo del afinado. Estos valores se utilizaron para calcular los índices de maduración y proteólisis que son mostrados en la Fig. 21. Dichos índices aumentaron rápidamente hasta alcanzar a los 70 días aproximadamente un valor de $30.00 \pm 2.5\%$ para el índice de maduración y $9.00 \pm 1.37\%$ para el de

proteólisis.

Tabla 8. Variación de los contenidos de nitrógeno soluble (NS) y no proteico (NNP) con el tiempo de maduración para el queso Port Salut.

tiempo (días)	NS (%)	NNP (%)
8	0.58	0.16
10	0.55	0.17
15	0.72	0.33
16	0.84	0.32
19	0.72	0.36
20	0.93	0.31
22	1.04	0.26
24	0.71	0.21
26	0.81	0.41
29	0.84	0.30
31	0.73	0.25
33		0.44
35	0.98	0.36
36	0.89	0.41
40	0.77	0.28
41	1.10	0.46

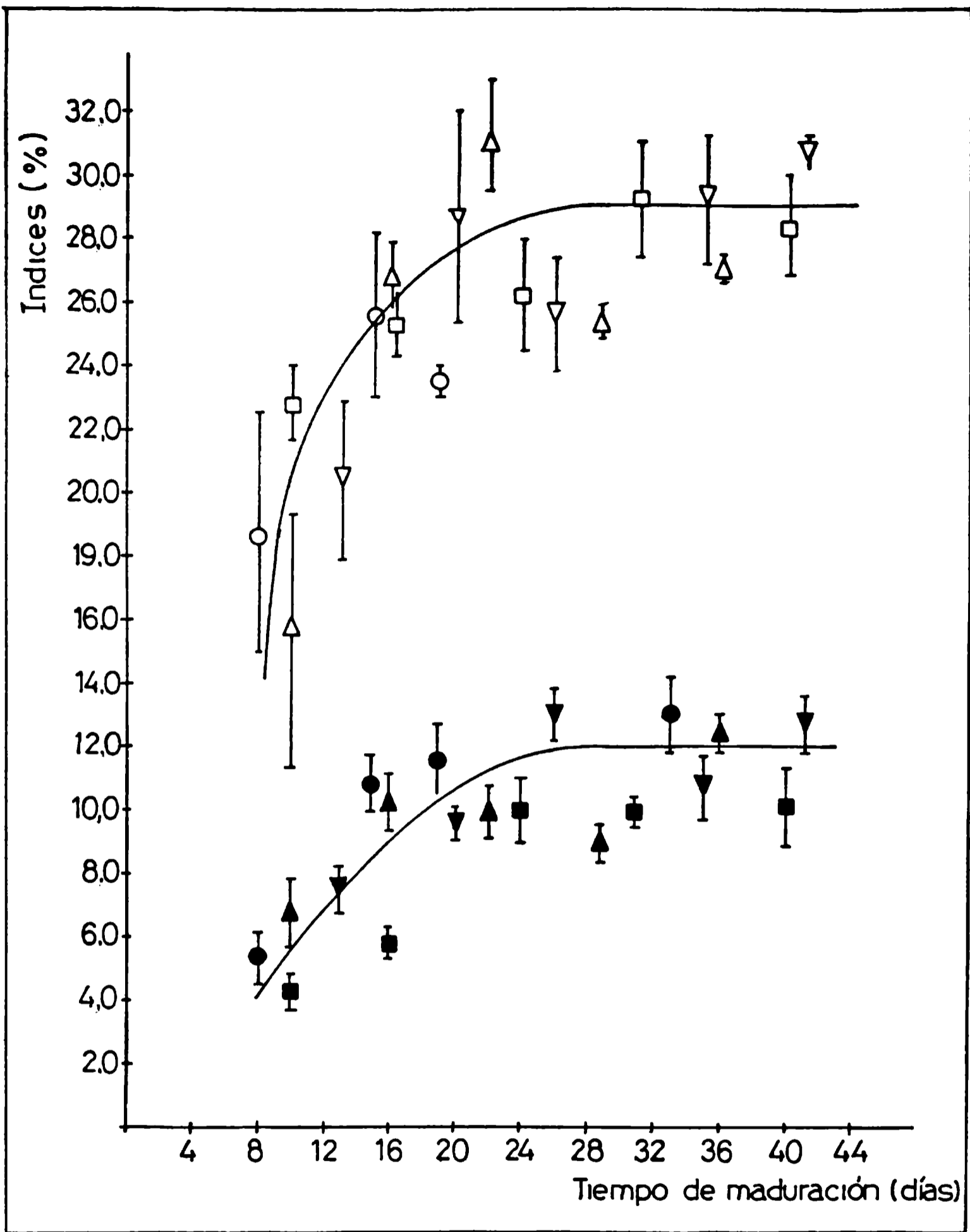


Figura 20. Índices de maduración (○, △, ▽, □) y proteólisis (●, ▲, ▼, ■) durante la maduración de queso Port Salut Argentino. Cada símbolo corresponde a una diferente partida de queso. Las barras indican los límites de confianza (P = 0.05).

Tabla 9. Variación de los contenidos de nitrógeno soluble (NS) y no proteico (NNP) con el tiempo de maduración para el queso Tybo.

tiempo (días)	NS (%)	NNP (%)
3	0.40	0.06
4	0.52	0.09
9	0.24	0.10
10	0.24	0.12
16	0.64	0.15
17	0.71	0.16
24	0.66	0.15
25	0.74	0.18
38	0.88	0.24
39	0.89	0.24
52	1.01	0.29
53	1.14	0.23
64	1.15	0.24
65	1.16	0.31
72	1.05	0.37
73	1.06	0.30
92	1.32	0.40
93	1.18	
113	1.22	0.34
114	1.18	0.39

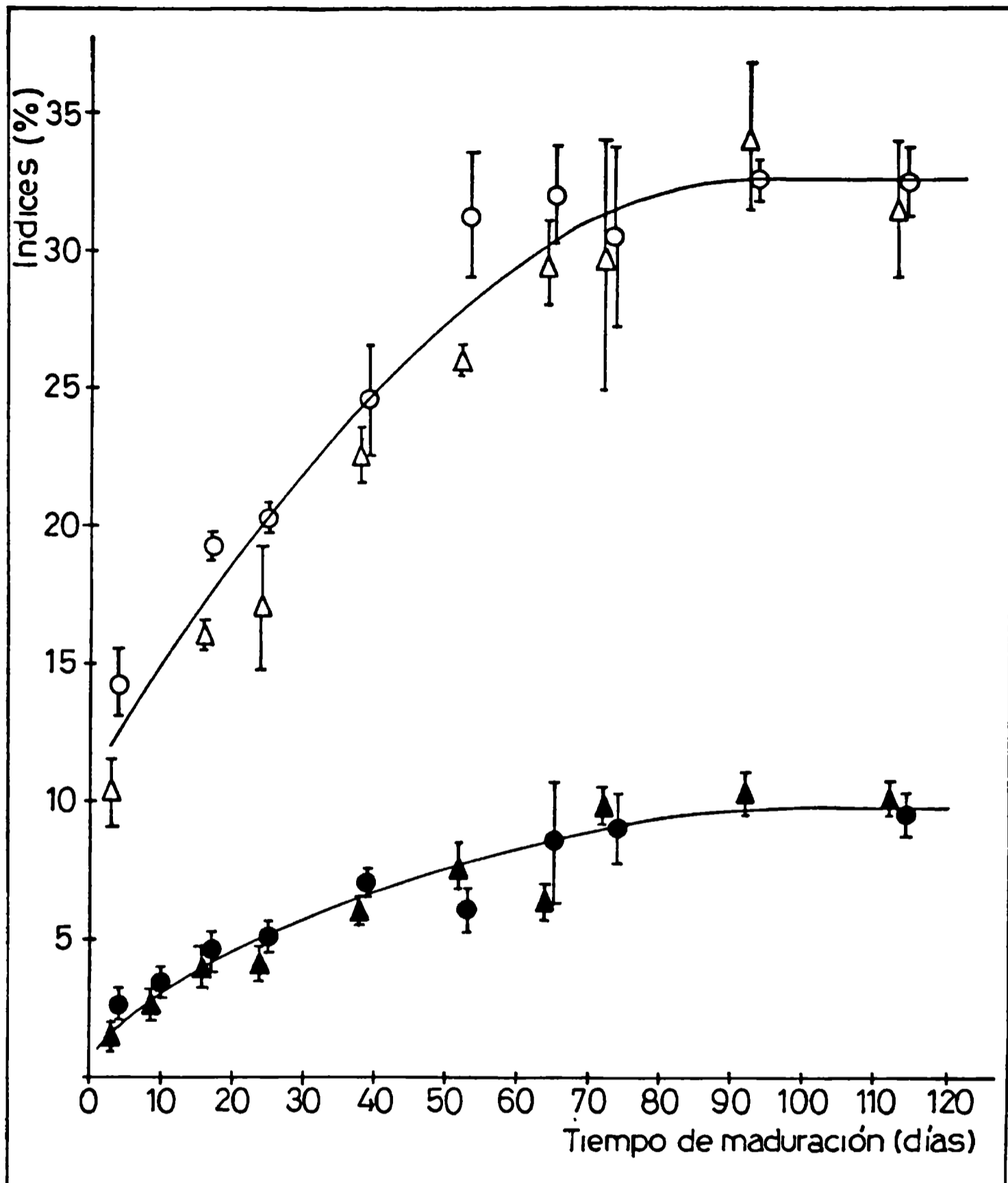


Figura 21. Indices de maduración (○,△) y proteólisis (●,▲) durante la maduración de queso Tybo Argentino. Cada símbolo corresponde a una diferente partida de queso. Las barras indican los límites de confianza (P = 0.05).

5.3.3. Degradación de caseínas

A partir de las curvas densitométricas obtenidas de las bandas electroforéticas de proteínas de queso con distintos tiempos de maduración (Fig. 22 y 23) se identificaron las fracciones α_{s1} y β caseína comparando sus R_f con los correspondientes a los patrones ($R_f = \text{distancia migrada por la proteína} / \text{distancia migrada por el frente del colorante}$). Para cuantificar la degradación de ambas fracciones caseínicas se calcularon las concentraciones a partir de las áreas correspondientes a sus picos, comparándolas con las áreas obtenidas para concentraciones conocidas de los patrones. La linealidad entre el área y la concentración fue verificada mediante una curva de calibración para cada fracción caseínica, utilizando concentraciones similares halladas en las soluciones obtenidas con las muestras de queso.

5.3.3.1. Queso Port Salut

En la Fig.24 pueden observarse los valores obtenidos a lo largo de la maduración para las concentraciones de α_{s1} y β caseínas. Existe un período en el cual tanto la concentración de α_{s1} como la de β caseína disminuyen rápidamente alcanzando un valor mínimo que permanece aproximadamente constante a partir de los 25 días y hasta el final del almacenamiento. Solamente el 20% de la concentración de α_{s1} caseína y el 50% de la de β caseína, tomadas ambas respecto de los contenidos obtenidos al inicio del almacenamiento en nuestro laboratorio, estaban aún intactos a los 25 días de maduración.

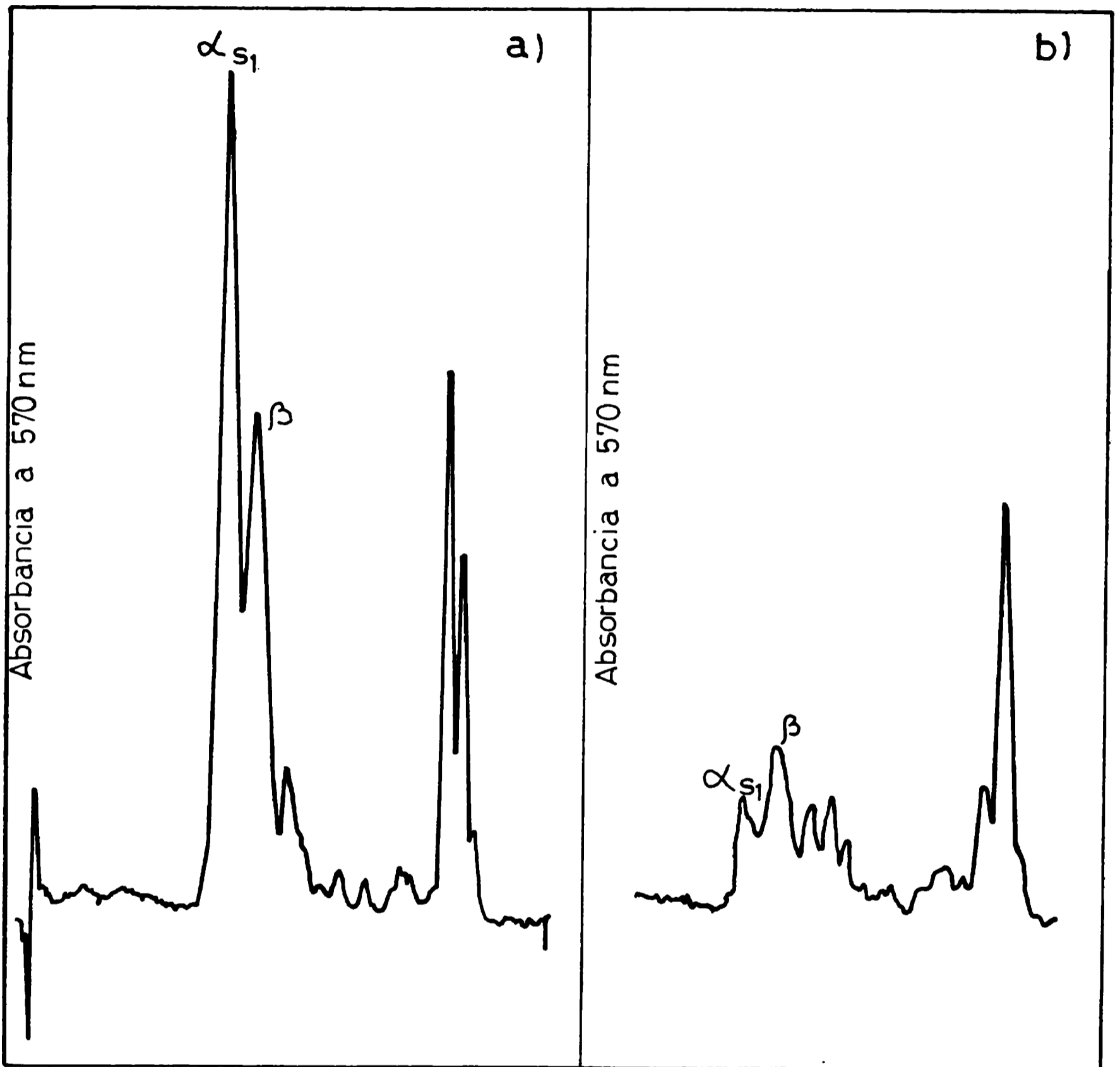


Figura 22. Densitogramas obtenidos para queso Port Salut Argentino a dos tiempos de maduración.

a) 10 días

b) 31 días

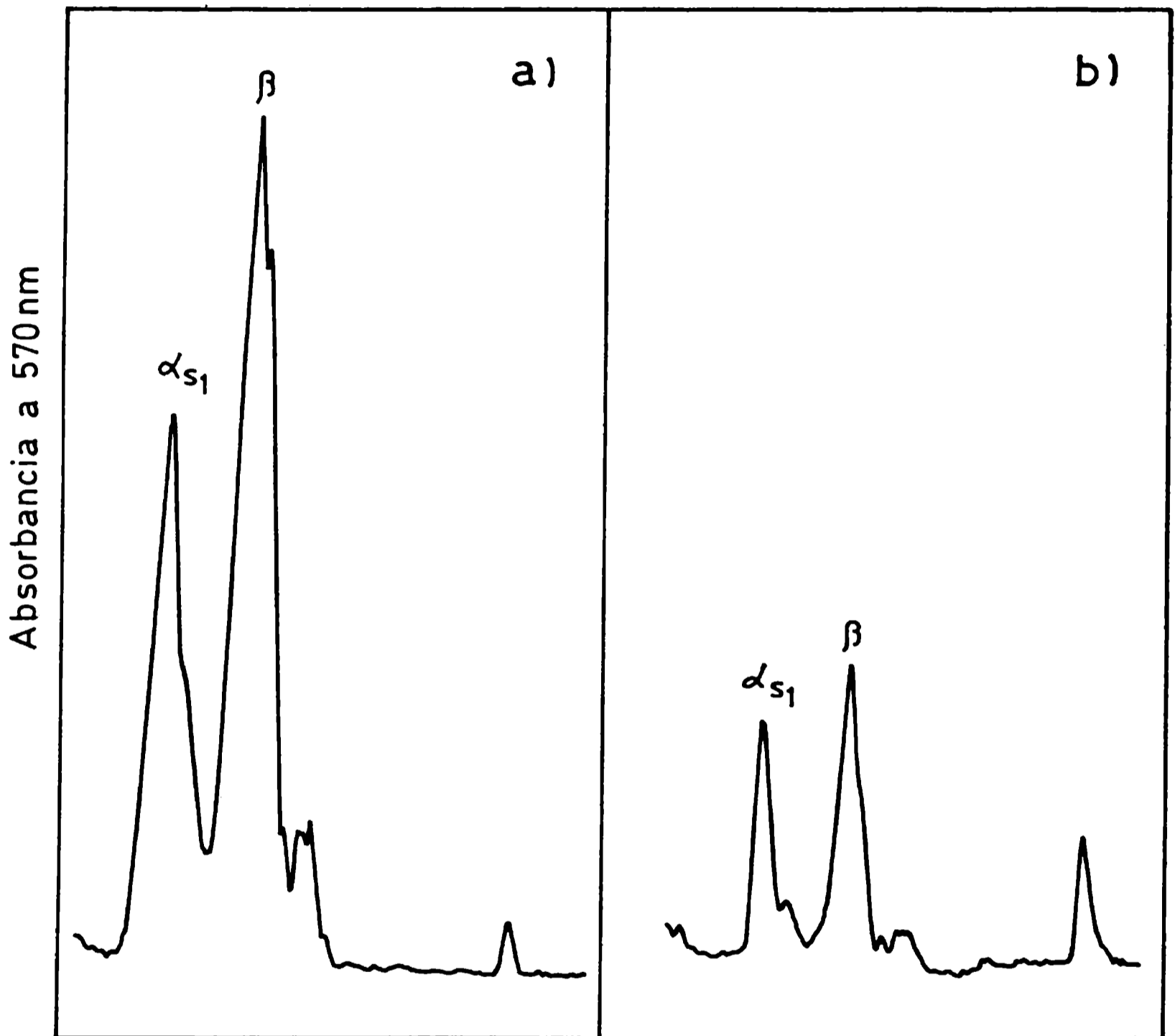


Figura 23. Densitogramas obtenidos para queso Tybo Argentino a dos tiempos de maduración.

a) 4 días

b) 73 días

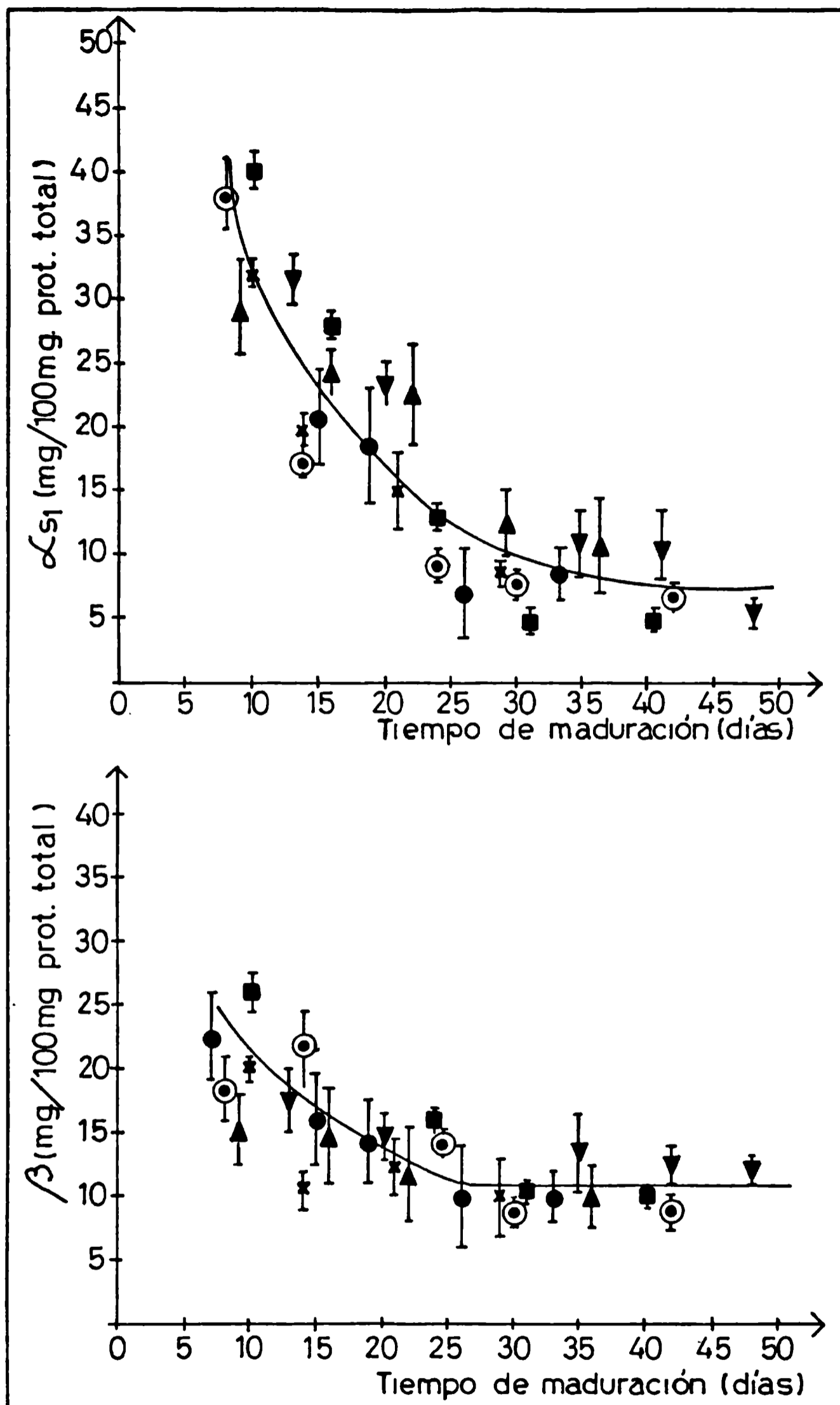


Figura 24. Variaciones en la concentración de a) α_1 y b) β caseínas durante la maduración de queso Port Salut Argentino. Cada símbolo corresponde a una diferente partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

Al igual que ocurre en el Port Salut, en este tipo de queso existe un período de degradación de las dos fracciones caseínicas (alrededor de 70 días), seguido de otro en el cual el valor de concentración permanece constante (Fig. 25). Al final del almacenamiento aparecían aún sin degradar el 10% de la α_{s1} caseína y el 30% de la β caseína.

Los valores obtenidos para los índices de maduración y proteólisis se regresionaron linealmente con las concentraciones de α_{s1} y β caseína, obteniéndose coeficientes de correlación mayores que 0.88. Estos resultados muestran la buena relación existente entre los índices utilizados para medir la proteólisis y la degradación de las caseínas.

5.4. DISCUSION

Al igual que en los trabajos realizados por Zalazar y Meinardi (1982) en queso Cremoso Argentino y Massoni y col (1985) en queso Grana Padano, los índices de maduración y proteólisis aumentaron durante el afinado alcanzando los valores máximos a distintos tiempos, debido a las diferentes características de los quesos.

En cuanto a la degradación de las caseínas, comparando las velocidades de hidrólisis de ambas fracciones caseínicas se ve que la degradación de la α_{s1} fue más rápida y pronunciada que la hidrólisis de la β caseína. Esta diferencia ha sido también informada por varios autores en diferentes tipos de quesos (Ledford y col., 1966; Creamer, 1970; Marcos y col., 1978) y puede ser atribuida a una diferencia en la accesibilidad de las proteasas sobre estas caseínas bajo las condiciones existentes en los quesos estudiados (de Jong, 1976).

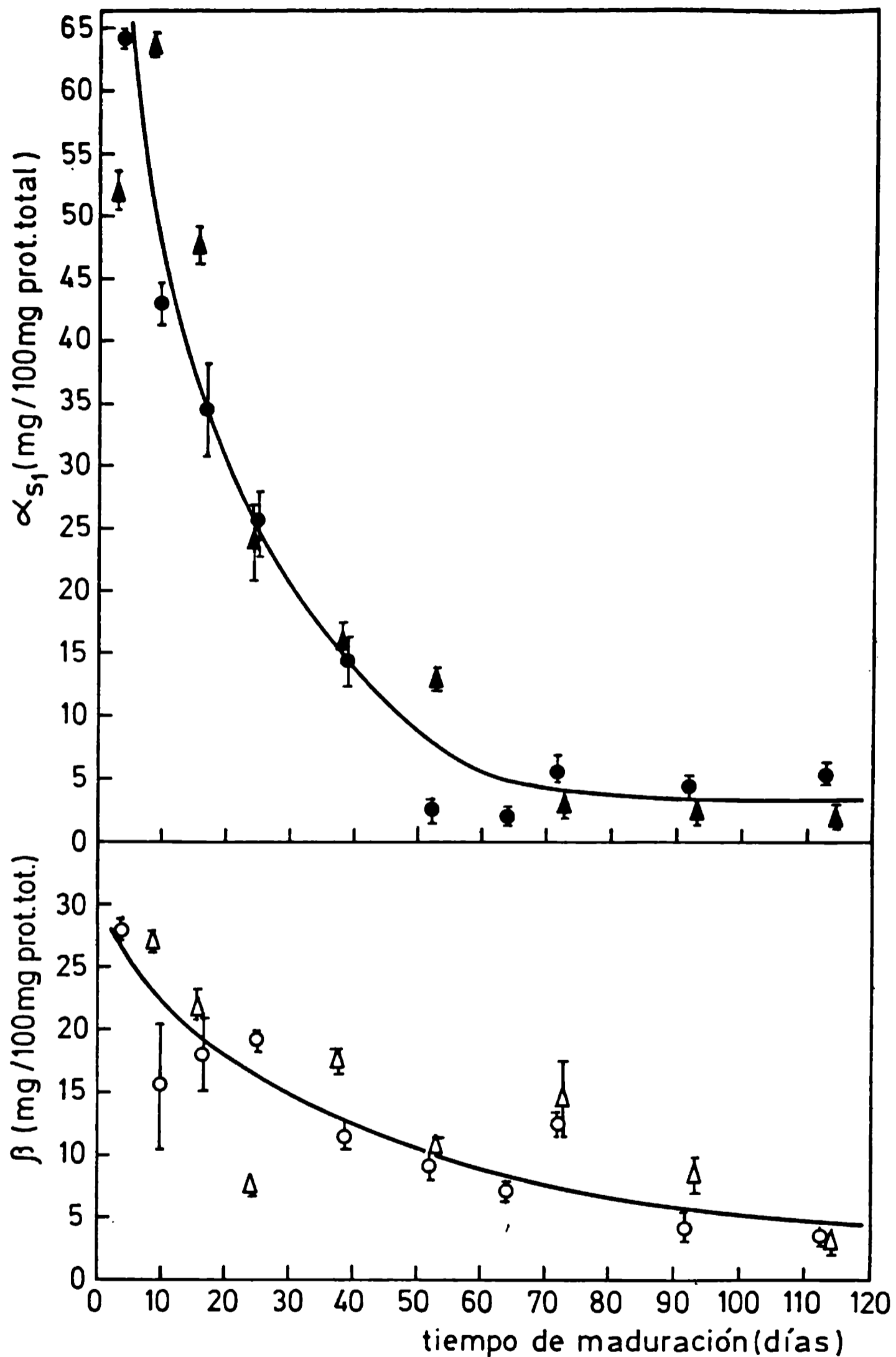


Figura 25. Variaciones en la concentración de a) α_{s1} y b) β caseínas durante la maduración de queso Tybo Argentino. Cada símbolo corresponde a una diferente partida de queso. Las barras indican los límites de confianza ($P = 0.05$).

Durante el afinado, la mayoría de las proteasas actúan sobre la α_1 caseína hidrolizándola, pero en general es aceptado que las enzimas coagulantes juegan un rol muy importante en la degradación inicial de la α_1 caseína (Creamer, 1970; Marcos y col., 1979; Grappin y col., 1985); siendo muy pequeña la contribución de otras proteasas como las bacterianas excepto las nativas de la leche y la de hongos en el caso de los quesos de pasta azul.

La degradación de las caseínas ocurrida durante la maduración del queso, produce cambios estructurales en dicho alimento, modificando así la textura del mismo como se ha observado en el capítulo anterior.

5.4.1. Relación entre parámetros reológicos y el grado de maduración

La textura de los quesos está sin duda muy estrechamente relacionada a su contenido proteico. A efectos de confirmar dicha vinculación, se estudió para los quesos Tybo y Port Salut Argentino la relación entre los parámetros reológicos y el grado de maduración.

Los parámetros reológicos: dureza, adhesividad, módulo de deformabilidad, viscosidades y módulos elásticos determinados en el capítulo 4 fueron correlacionados linealmente, para ambos quesos, con los índices de maduración y proteólisis y con la concentración de α_1 caseína. A modo de ejemplo son presentados en la Tabla 10 los coeficientes a y b de las correlaciones lineales y los respectivos coeficientes de correlación r obtenidos en el presente trabajo para el queso Tybo. La cohesividad y la deformación relativa en la ruptura no fueron incluidos en dicha tabla pues mostraron muy bajos valores del coeficiente de correlación ($r < 0.5$).

Tabla 10. Coeficientes obtenidos de la regresión lineal entre los parámetros reológicos y los indicadores del grado de maduración.¹

Parámetros reológicos	Indice de maduración			Indice de proteólisis			concentración de α_1 caseína		
	a	b	r	a	b	r	a	b	r
Dureza (N)	84.41	-1.96	0.83	74.91	-5.84	0.91	22.60	0.73	0.89
Adhesividad ($\text{J} \times 10^3$)	-1.61	0.12	0.88	-0.62	0.32	0.77	2.21	0.04	0.86
Módulo de deformabilidad (kPa)	53.81	-0.94	0.72	56.25	-3.56	0.75	22.64	0.49	0.78
Módulo elástico E_0 (kPa)	38.63	-0.97	0.76	37.39	-3.30	0.75	6.43	0.47	0.83
Módulo elástico E_1 (kPa)	56.70	-1.00	0.68	51.90	-3.10	0.70	22.60	0.50	0.81
Módulo elástico E_2 (kPa)	66.50	-5.50	0.83	74.00	-1.80	0.80	16.00	0.90	0.88
Viscosidad η_1 ($\text{Pa s} \times 10^{-9}$)	2.06	-0.03	0.48	1.99	-0.09	0.54	1.07	0.02	0.76
Viscosidad η_2 ($\text{Pa s} \times 10^{-7}$)	0.86	-0.02	0.90	0.70	-0.06	0.88	0.13	0.01	0.93

¹ a: ordenada al origen, b: pendiente, r: coeficiente de correlación

La mayoría de los parámetros seleccionados correlacionaron significativamente con el grado de proteólisis. La dureza y la viscosidad η_2 mostraron los mayores coeficientes de correlación.

Para el caso del queso Port Salut se ha graficado la relación lineal encontrada entre la dureza y la concentración de α_{s1} caseína (Fig. 26). Como puede observarse los valores de dureza para los quesos más húmedos fueron independientes de la cantidad de proteína hidrolizada, mientras que en los quesos de menor humedad la degradación de α_{s1} caseína influyó sobre los cambios de dureza durante la maduración.

Las altas concentraciones de α_{s1} caseína que son encontradas en ambos tipos de quesos a cortos tiempos de maduración, le confieren a los mismos una mayor consistencia, que va disminuyendo a medida que la α_{s1} caseína es degradada a causa del ataque de las enzimas. Estos resultados coinciden con los encontrados por de Jong (1976).

Las bajas concentraciones de α_{s1} caseína hacia el final de la maduración, son responsables del aumento de elasticidad y ablandamiento del queso, reflejado en la disminución del módulo elástico de equilibrio y la viscosidad η_2 que es mostrado en la Fig. 27 a, b para el queso Port Salut. Esto puede explicarse ya que los productos de degradación de las caseínas son muy solubles en agua y no pueden contribuir a la rigidez de la matriz del queso (Lawrence y col., 1987).

Dos distintas fases en el desarrollo de la textura tienen lugar durante la maduración. En la primera fase los quesos jóvenes con una textura gomosa se convierten rápidamente en un producto más homogéneo. Dado que la caseína es la única fase sólida continua, su proteólisis afecta a los cambios de textura. La malla de caseína se debilita cuando la α_{s1} caseína es hidrolizada por el coagulante.

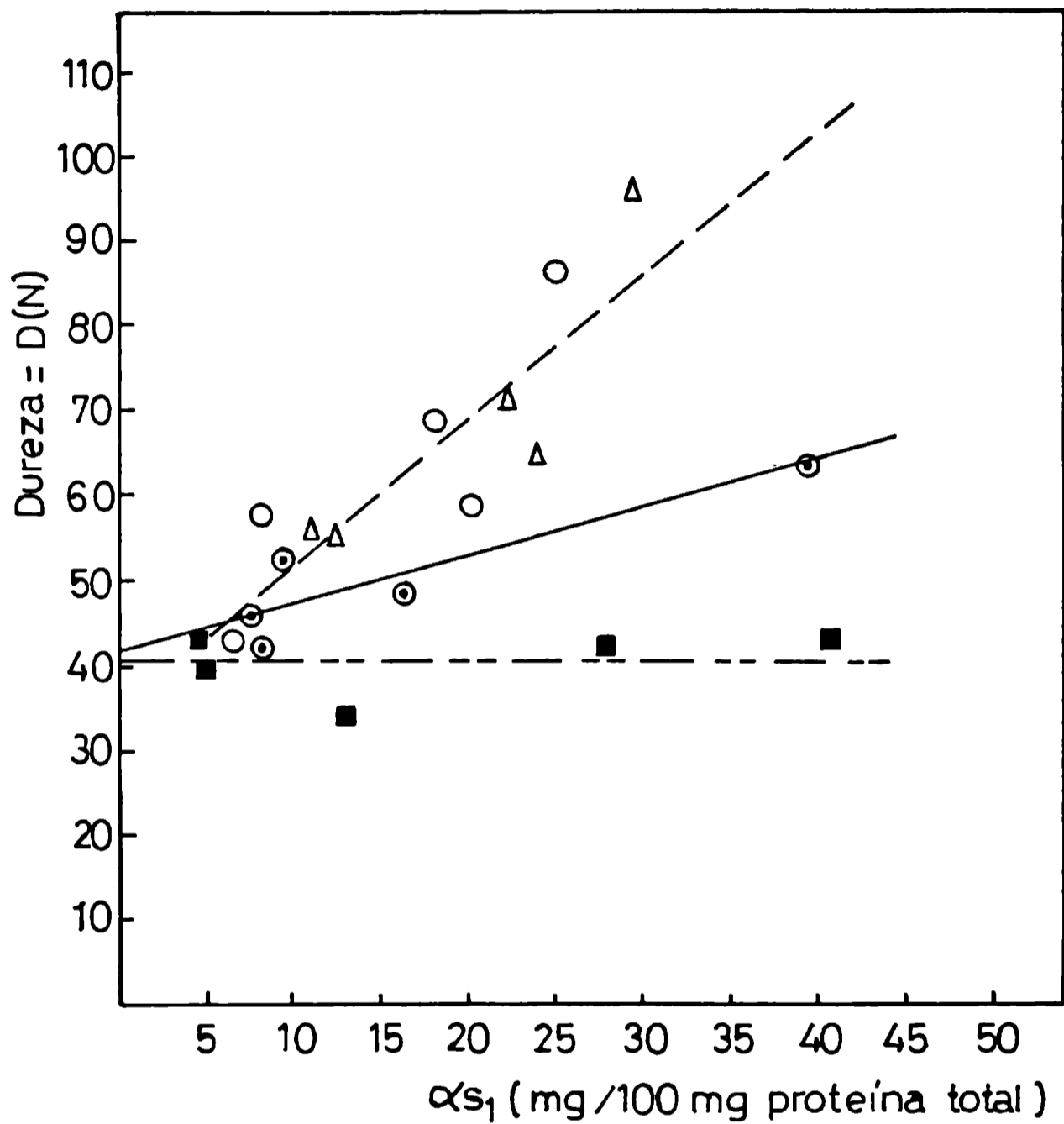


Figura 26. Influencia de la concentración de α_s1 caseína sobre los valores de dureza para queso Port Salut. Los coeficientes de correlación (r) son indicados en cada caso.

Humedad: ○, △: 51-52% ($r = 0.900$); ⊙: 54% ($r = 0.878$); ■: 55% ($r = 0.895$)

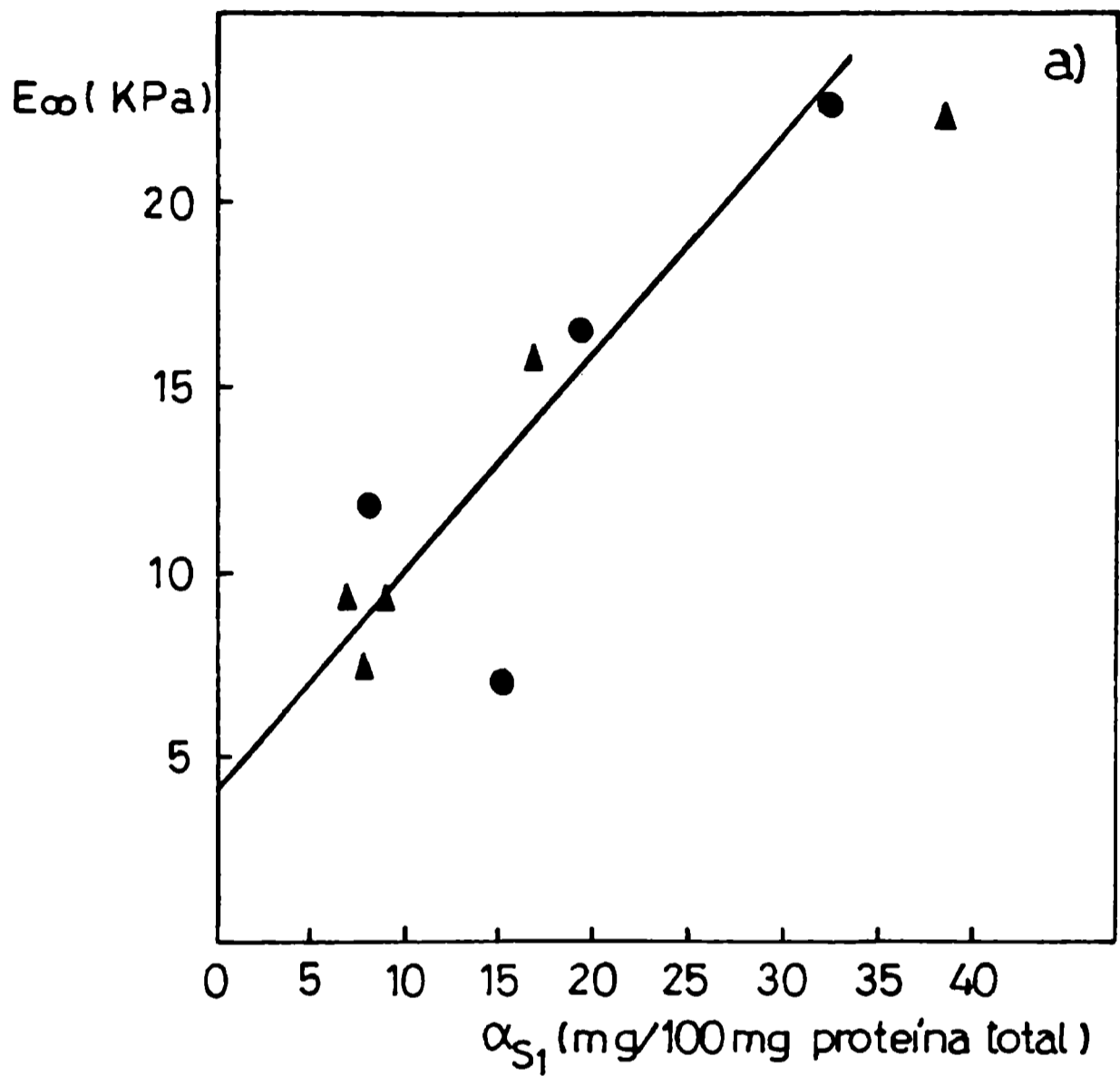


Figura 27 a. Relación entre el módulo elástico de equilibrio (E_{∞}) y la concentración de α_{S_1} caseína para queso Port Salut. Coeficiente de correlación $r = 0.890$)

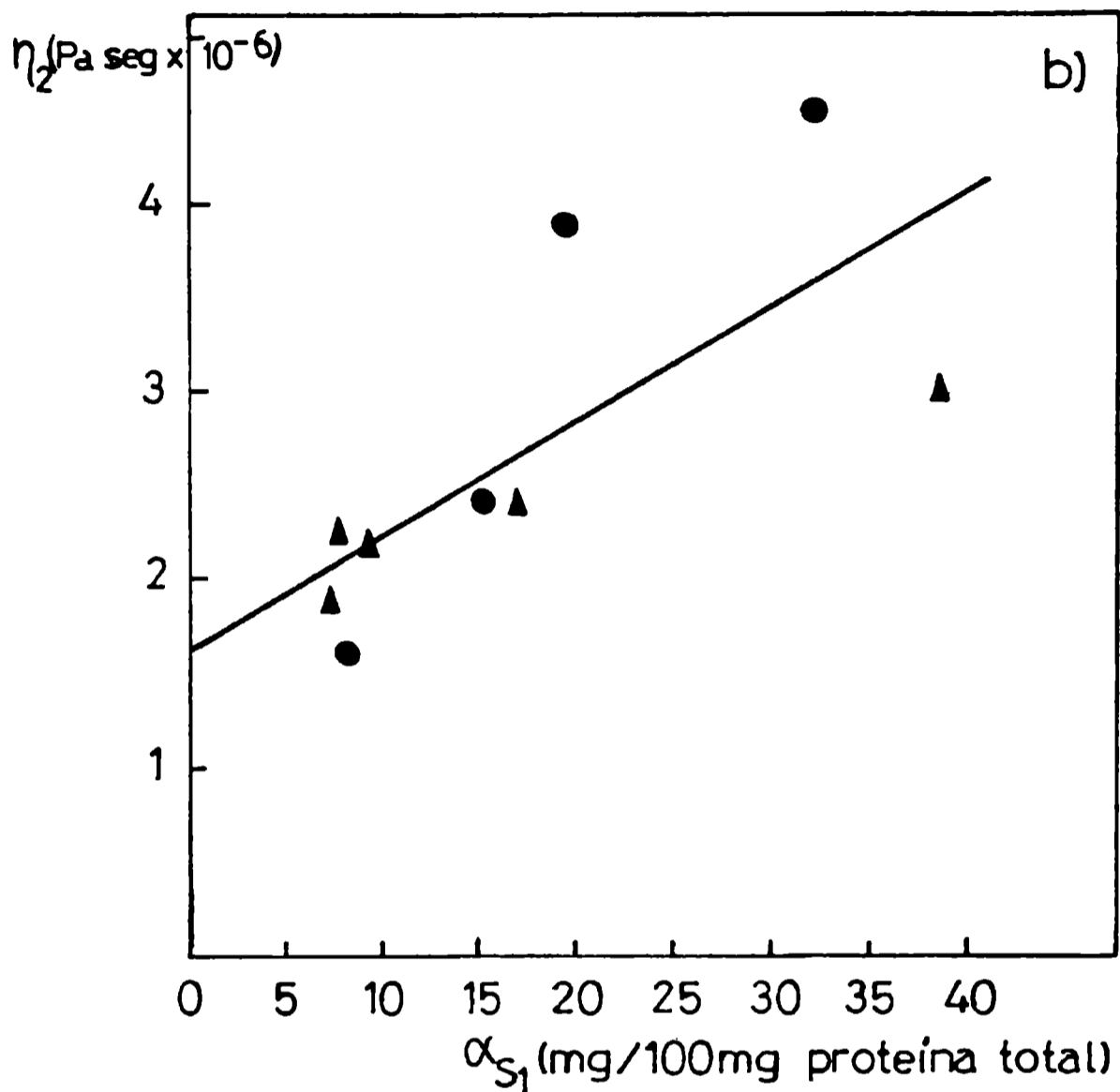


Figura 27 b. Relación entre la viscosidad correspondiente al elemento maxwelliano con mayor tiempo de relajación (η_2) y la concentración de α_{s1} caseína para queso Port Salut. Cada símbolo corresponde a una diferente partida de queso. Coeficiente de correlación $r = 0.890$.

La segunda fase involucra cambios más importantes en la textura, el resto de la α_1 y las otras caseínas son degradadas en periodos que van desde días hasta meses según el tipo de queso.

Las propiedades reológicas de quesos con valores similares de pH, concentración de sodio y degradación de α_1 caseína están regulados por su contenido de humedad. Quesos duros y semiduros no se ablandan durante la maduración en la misma forma que los quesos blandos, pero en ellos ocurren los mismos cambios estructurales. Estos resultados también fueron informados por de Jong (1978, a y b) para otros quesos blandos.

Dado que se ha demostrado la existencia de una satisfactoria correlación lineal entre los parámetros reológicos y los índices de maduración y proteólisis, puede demostrarse que los cambios en la textura están estrechamente vinculados a las modificaciones en la microestructura del queso.

CAPITULO 6
CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- Se implementó el método de incremento de concentración (isostático), basado en la medición de la cantidad de gas que difunde a través de una muestra del material a ensayar, para la medición de permeabilidad gaseosa de películas plásticas representativas de las que se emplean en la industria local. De acuerdo a las experiencias realizadas, dicho método mostró la exactitud y precisión adecuadas para tal fin. La celda construida para la medición de la permeabilidad gaseosa resultó ser adecuada para la utilización del método implementado.

- Con respecto a la caracterización físico química de la maduración de quesos se trabajó sobre dos tipos: Port Salut (blando) y Tybo Argentino (semiduro). Estos quesos fueron seleccionados ya que su producción cubre más del 50% de la del país y son comúnmente madurados en películas plásticas flexibles de permeabilidad controlada a los gases y baja permeabilidad al vapor de agua. A causa del uso de estas películas la humedad de los quesos permaneció constante a lo largo de la maduración.

- Del análisis de los parámetros de textura derivados de las curvas fuerza-deformación (dureza, adhesividad, cohesividad, módulo de deformabilidad y deformación relativa en la ruptura), se observó que los parámetros que mostraron las mayores variaciones con el tiempo de maduración fueron la dureza y la adhesividad. En ambos tipos de quesos el primero de ellos decreció mientras que la adhesividad aumentó. Asimismo estos parámetros mostraron menores dispersiones que las encontradas en el módulo de deformabilidad, deformación relativa en la ruptura y cohesividad. Después de un período de 25 días para el queso Port Salut y 70

días para el Tybo los parámetros de textura analizados permanecieron aproximadamente constantes.

- Los ensayos con queso Port Salut con distintos contenidos de humedad mostraron que los quesos más húmedos presentaban un marcado incremento en la adhesividad y una menor disminución de la dureza en comparación con los de menor humedad. La dureza disminuyó en un 50% para los quesos con menor contenido de agua (51-52%) mientras que en los más húmedos (55%) este parámetro no mostró variaciones significativas a lo largo de la maduración. En cuanto a la adhesividad aumentó 2.5 veces más, en los quesos con mayor humedad.

- Con respecto al comportamiento viscoelástico de los quesos, se realizaron ensayos de relajación. Las curvas resultantes de tales experiencias fueron ajustadas a un modelo mecánico lográndose para los dos tipos de quesos utilizados, el mejor ajuste con un modelo del tipo Maxwell generalizado integrado por dos elementos maxwellianos en paralelo con uno elástico.

- A partir de las ecuaciones obtenidas se calcularon los parámetros reológicos característicos del modelo propuesto. De este modo se obtuvieron los módulos elásticos y las viscosidades correspondientes a cada elemento del modelo de Maxwell. Del análisis estadístico de los valores obtenidos se observó que los parámetros que mostraron las mayores variaciones con el tiempo de maduración fueron el módulo elástico de equilibrio (E_{∞}) correspondiente al elemento elástico y la viscosidad del elemento con mayor tiempo de relajación (η_2). Ambos parámetros decrecieron con el tiempo de afinado, representando el primero de ellos el aumento de elasticidad y el segundo el ablandamiento del queso durante

la maduración. El módulo elástico E_{∞} decreció en un 80% para el Port Salut y en un 85% para el Tybo, mientras que la viscosidad η disminuyó en un 20% para el Port Salut y más notoriamente (78%) en el queso Tybo.

- Para explicar la modificación de los parámetros reológicos se analizaron los cambios en la microestructura del queso: Los índices de maduración y proteólisis, cuantificados a través del nitrógeno soluble, no proteico y total, aumentaron a lo largo de la maduración, alcanzando valores máximos alrededor de los 25 días para el queso Port Salut y 70 días para el queso Tybo, a partir de los cuales los índices permanecieron aproximadamente constantes. Los valores máximos alcanzados por el nitrógeno soluble y el nitrógeno no proteico fueron para el queso Port Salut 29% y 12%, mientras que el Tybo alcanzó valores de 30% y 9%.

- Mediante electroforesis en geles de poliacrilamida se identificaron y cuantificaron las fracciones α_{s1} y β caseínicas. Estos análisis electroforéticos mostraron que en los dos tipos de quesos estudiados, la degradación de la α_{s1} caseína fue más rápida y pronunciada que la hidrólisis de la β caseína. Las concentraciones de las dos fracciones caseínicas decrecieron durante un período de 25 días para el queso Port Salut y 70 días para el Tybo hasta alcanzar un valor mínimo, a partir de allí permanecieron aproximadamente constantes. Al final de la maduración permanecían aún sin degradar el 20% de la α_{s1} caseína y el 50% de la β caseína en el caso del queso Port Salut, mientras que en el Tybo estaban aún intactas el 10% de la α_{s1} caseína y el 30% de la β caseína. Esta degradación proteica es atribuible a la acción de las proteasas del cuajo y no a las microbianas.

- Se determinaron para los dos tipos de quesos, los tiempos para los cuales tanto los índices de maduración y proteólisis como los de textura alcanzaban valores asintóticos, lo cual permitió establecer los períodos mínimos de maduración para lograr la calidad deseada en el producto.

- Todos los parámetros reológicos cuantificados, a excepción de la cohesividad y la deformación relativa en la ruptura correlacionaron significativamente con la extensión de la proteólisis (expresada como índices de maduración y proteólisis o como concentración de α_1 caseína), siendo la dureza y la viscosidad η_2 los que mostraron los mayores coeficientes de correlación.

- Finalmente puede concluirse que la macroestructura del queso, visualizada a través de parámetros reológicos, es la manifestación externa de su microestructura, particularmente relacionada a la malla formada por las cadenas de caseínas y que la degradación de las mismas se traduce en el ablandamiento y aumento de la elasticidad.

"Las cosas, unas conducen a otras. Son como caminos, y son como caminos que sólo conducen a otros caminos"

Antonio Porchia, Voces

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- American Society for Testing Materials (1957). Gas transmission of plastic sheeting, Method D 1434-56 T. En: Standards on plastics. ASTM. Philadelphia.
- Aston, J.W.; Durward, I.J. y Dulley, J.R. (1983). Proteolysis and flavour development in Cheddar cheese. The Australian Journal of Dairy Technology. 38(2): 55.
- Adda, J.; Gripon, J.C. y Vassal, L. (1982). The chemistry of flavour and texture generation in cheese. Food Chemistry. 9:115.
- Approved Methods of the American Association Cereal Chemists. (AACC). Method 22-61. (1983).
- Becker, K. (1964) Verbessertes Gerat zur Bestimmung der Gas durchlassigkeiten von Kunststofffolien fur trochene und feuchte Gas. Kunststoffe. 54(3): 155.
- Becker, K. (1968). La permeabilidad a los gases de los materiales sintéticos. Revista del VDI (Centro de Ingenieros Alemanes). 110(7): 271.
- Belfiore, M.P. (1980). Elaboración del queso Cuartirolo. Industria Lechera. 60(666): 20.
- Breene, W.M. (1975). Application of texture profile analysis to instrumental food texture evaluation. Journal of Texture Studies. 6:53.
- Brennan, J.G., Jowitt, R. y Hughsi, O.A. (1970). Some experiences with the Generals Foods Texturometers. Journal of

Texture Studies. 1:167.

- Bourne, M.C. (1968). Textural profile of ripening pears. Journal of Food Science. 33:223.
- Bourne, M.C. (1982). Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. Academic Press. New York y London.
- Chen, A.H., Larkin, J.W., Clark, C.J. e Irwing, W.E. (1979). Textural analysis of cheese. Journal of Dairy Science. 62:901.
- Código Alimentario Argentino Actualizado. (1988). de La Canal y asociados S.R.L.
- Crank, J. y Park, G.S. (1968). Diffusion in Polymers. Academic Press. London y New York.
- Creamer, L.K. (1970). Protein breakdown in Gouda cheese. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology. 5:152.
- Creamer, L.K. y Olson, N.F. (1982). Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. Journal of Food Science. 47(2): 631.
- Culioli, J. y Sherman, P. (1976). Evaluation of Gouda cheese firmness by compression test. Journal of Texture Studies. 7:353.
- DIN 53 380 (1967). Determinación de la permeabilidad a los gases de láminas plásticas. Editado por la Comisión de Normas Alemanas. Augsburg.
- Dilanjan, S.Ch. (1984). Fundamentos de la elaboración del

queso. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

- de Jong, L. (1976). Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 1. Proteolysis and consistency of "Noordhollandse Meshanger" cheese. Netherland Milk Dairy Journal. 30:242.
- de Jong, L. (1978).
 - a) The influence of the moisture content on the consistency an protein breakdown of cheese. Netherland Milk Dairy Journal 32:1.
 - b) Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 3. The micellar structure of Meshanger cheese. Netherland Milk Dairy Journal. 32:15.
- Eberhard, P. y Fluckiger, E. (1978). Comparison between subjective and objective texture evaluation of Emmental cheese. Schweizerische Milchzeitung. 104:432.
- Ernstrom, C.A. y Wong, N.P. (1974). Milk clotting enzymes and cheese chemistry. En: Fundamentals of Dairy Chemistry. 2° Ed. (Editado por Webb, B.; Johnson, A. y Alford, J.). Cap 12: 662. AVI. Wesport, Connecticut.
- Emmons, D.B., Kalab, M., Larmond, E. y Lowrie, R.J. (1980). Milk gel structure. 10. Texture and microstructure in Cheddar cheese made from whole milk and from homogenized low-fat milk. Journal of Texture Studies. 11:15.
- Fiszman, S.M., Costell, E. y Durán, L. (1983).
 - a) Medida del comportamiento reológico de los alimentos sólidos. I. Bases teóricas. Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos. 23(2):164.

- b) Medida del comportamiento reológico de los alimentos sólidos. II. Métodos fundamentales. Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos. 23(3):303.
- Fiszman, S.M., Costell, E., Serra, P. y Durán, L. (1986). Relajación de sistemas viscoelásticos. Comparación de métodos de análisis de las curvas experimentales. Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos. 26(1):63.
 - Fox, P.F.(1987). Cheese: An Overview. En: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol 1, General Aspects.(Editado por P.F. Fox). cap.1:1. Elsevier Applied Science. London y New York.
 - Fradin, M. (1984). L'affinage sous film. En: Le Fromage. Cap. 3: 308. Technique et Documentation. Lavoisier.
 - Grappin, T.C., Rank, T.C., Olson, N.F. (1985). Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. A review. Journal of Dairy Science. 68: 531.
 - Green, M.L., Marshall, R.J., Brooker, B.E. (1985). Instrumental and sensory texture assessment and fracture mechanism of Cheddar and Cheshire cheese. Journal of Texture Studies. 16:351.
 - Gudkow, A. W., Perfiljew, G.D., Dokunin, W.N., Chandak, R.N., Belowa, G. A., Rosdow, I. A., Sweschinski, O.M. (1980). Nuevos revestimientos polimerizados para quesos. En: Fabricación de Productos Lácteos. Pp. 209. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
 - Hakkaraien, H. (1978). XX International Dairy Congress, Paris. Conferencia 38 ST.

- Imoto, E.M., Lee, C.H., Rha, C. (1979). Effect of compression ratio in the mechanical properties of cheese. *Journal of Food Science*. 44(2): 343.
- Johnson, A.H. (1974). The composition of milk. En: *Fundamentals of Dairy Chemistry*. 2da Ed. (Editado por Webb, B., Johnson, A. y Alford, J.). Cap. 1:1. Ed. A.V.I. Westport, Connecticut.
- Juarez, M., Alonso, L. y Ramos, M. (1983). Lipólisis y proteólisis del queso Cabrales durante la maduración. *Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos*. 23(4):541.
- Karel, M. (1975). Protective packaging of foods. En: *Principles of Food Science. Part II: Physical Principles of Food Preservation*. Cap. 12:422. Ed. O.R. Fennema, M. Dekker of INC. New York y Basel.
- Karel, M., Issenberg, P., Roasivalli, L., Jurin, V. (1963). Application of Gas Chromatography to the measurement of gas permeability of packaging materials. *Food Technology*. 3:91.
- Kfoury, M., Mpagana, M., Hardy, J. (1989). Effect of cheese ripening on rheological properties of Camembert and Saint-Paulin cheese. *Lait*. 69(2): 137.
- Kosikowski, F.V. (1982). *Cheese and Fermented Milk Foods*. 2da Ed. F.V. Kosikowski and Associates. New York.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680.
- Laemmli, U.K. y Favre, M. (1973). Maturation of head of bacteriophage T4. *Journal of Molecular Biology*. 80:575.

- Landrock, A.H; Proctor, B.E. (1952). The simultaneous measurement of oxygen and carbon dioxide permeability of packaging materials. *Tappi*. 35: 241.
- Larmond, E. (1976). Sensory measurement of food texture. En: *Rheology and Texture in Food Quality*. (Editado por de Man, J. M., Voisey, P.W., Rasper, V.F., Stanley, D.W.) Cap. 17: 535. A.V.I. Publishing Company, INS. Westport, Connecticut.
- Law, B.A. (1981). The formation of aroma and flavor compounds in fermented dairy products. *Dairy Science Abst.* 43(3):143.
- Law, B.A. (1987) Proteolysis in relation to normal and accelerated cheese ripening. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Vol. 1, General Aspects*. (Editado por. P.F. Fox). Cap. 10: 365. Elsevier Applied Science. London y New York.
- Lawrence, R.C.; Gilles, J. y Creamer, L.K. (1983). The relationship between cheese texture and flavour. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*. 18:175
- Lawrence, R.C.; Creamer, L.K. y Gilles, J. (1987). Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*. 70: 1748.
- Lee, Ch.; Imoto, E.; Rha, Ch. (1978). Evaluation of cheese texture. *Journal of Food Science*. 43(5): 1600.
- Ledford, R.A., O'Sullivan, A.C. y Nath, K.R. (1966). Residual casein electrophoresis. *Journal of Dairy Science*. 49(9):1098
- Lowry, W.O., Rosenbroug, H.S., Lewis, A. y Randall, K. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent.

Journal of Biological Chemistry. 193:265.

- Madkor, S., Fox, P.F., Shalabi, S.I. y Metwalli, N. H. (1987). Studies on the ripening of Stilton cheese: Proteolysis. Food Chemistry. 25(1):13.
- Manual Oficial para el Análisis Bromatológico. (1972). Instituto Biológico y Laboratorio de Salud Pública. Ministerio de Bienestar Social. Provincia de Buenos Aires.
- Marcos, A., Fernandez-Salguero, J. y Esteban, M.A. (1978). Hidrólisis relativa de las caseínas del queso Manchego maduro y primeros productos de degradación proteolítica. Archivos de Zootecnia. 27(108):341.
- Marcos, A.; Esteban, M.A.; Leon, F.; Fernandez-Salguero, J. (1979). Electrophoretic pattern of european cheeses: comparison and quantitation. Journal of Dairy Science. 62: 892.
- Masi, P. (1989). Characterization of history-development stress-relaxation behaviour of cheese. Journal of Texture Studies. 19(4):373.
- Masi, P.; Addeo, F. (1986). An examination of some mechanical properties of a group of italian cheese an their relation to structure and conditions of manufacture. Journal of Food Engineering. 5:217.
- Massoni, F., Maccagni, A., Emaldi, G.C. y Passaler, L. (1985). Maturazione de Formaggi confezionati sotto vuoto in film semipermeabili. Nota 1: Grana Padano. Il Latte. 10:121.
- Mitchel, J.R. (1976). Rheology of gels. Journal of Texture

Studies. 7:313.

- Morr, C.V. (1971). Comparison of protein preparation procedures an starch versus polyacrilamyde gel electrophoresis for ex-aminig casein degradation products in cheese. Journal of Dairy Science. 54(3):339.
- Moshenin, N. N., Mittal, J. P. (1977). Use of rheological terms and correlation of compatible measurements in food texture research. Journal of Texture Studies. 8:395.
- Nuñez, M., Gaya, P., Medina, M., Rodriguez-Marín, M.A. y García-Aser, C. (1986). Changes in microbiological, chemical, rheological and sensory characteristics during ripening of vacuum packaged Manchego cheese. Journal of Food Science. 51(6):1451.
- Nussinovitch, A., Peleg, M., Normand, M. D. (1989). A modified Maxwell and a nonexponential model for characterization of the stress relaxation of agar and alginate gels. Journal of Food Science. 54(4):1013.
- Nussinovitch, A., Ak, M. M., Normand, M. D., Peleg, M. (1990). Characterization of gellan gels by uniaxial compression, stress relaxation and creeps. Journal of Texture Studies 21(1):37.
- Peleg, M. y Calzada, J.F. (1976). Stress relaxation of deformed fruits and vegetables. Journal of Food Science. 41:1325.
- Peleg, M. (1977). The role of the specimen dimensions in uniaxial compression of food materials. Journal of Food Science. 42:649.

- Peleg, M. (1979). Characterization of the stress relaxation curves of solid foods. *Journal of Food Science*. 44(1):277.
- Peleg, M. (1980). Rheological models for solids foods. En: *Food Process Engineering*. Vol. 1. (Editado por P. Linko, Y. Malkian y J. Olkku). Pp: 250. Applied Sci. Pub. Ltd. London.
- Prentice, J.H. (1987). Cheese rheology. En: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol.1, General Aspects.(Editado por P.F. Fox). Cap. 8:299. Elsevier Applied Science. London y New York.
- Rank, T.C., Grappin, R. y Olson, N.F. (1985). Secondary proteolysis of cheese during ripening: A review. *Journal of Dairy Science*. 68:801.
- Reville, W.J. y Fox, P.F. (1978). Soluble protein in Cheddar cheese: A comparison of analytical methods. *Ir. Journal of Food Science and Technology*. 2:67.
- Rogers, C., Meyer, J.A., Stannett, V. y Szwarc, M. (1956). Studies in the gas and vapor permeability of plastic films and coated papers. Part I: Determination of the permeability constant. *Tappi*. 39(11):737.
- Scott, R. (1981). *Cheesmaking Practice*. Elsevier Applied Science Publishers. London y New York.
- Shama, F. y Sherman, P. (1973). Evaluation of some texture properties of foods with the Instron Universal Testing Machine. *Journal of Texture Studies*. 4:344.
- Sherman, P. (1969). A textural profile of foodstuffs based upon welldefined rheological properties. *Journal of Food Science*.

34:458.

- Sherman, P. (1970). Industrial Rheology. Academic Press. London y New York.
- Sherman, P. (1976). The textural characteristics of dairy products. En: Rheology and Texture in Food Quality. (Editado por J.M. de Man, P.W. Voisey, V.F. Rasper, D.W. Stanley) Cap.10:382. A.V.I. Westport, Connecticut.
- Swaisgood, H.E. (1982). Chemistry of milk protein. En: Developments in Dairy Chemistry. 1. Proteins. (Editado por P.F. Fox). Cap. 1:1. Applied Science Publishers. London y New York.
- Szczesniak, A.S. (1975). General foods texture profile revisited ten years perspective. Journal of Texture Studies. 6:5.
- Taylor, A.A, Karel. M. y Proctor, B.E. (1960). Measurement of oxygen permeability. Modern Packaging. 33(10):131.
- Veisseyre, R. (1980). Lactología Técnica. Acribia. Zaragoza España.
- Vernon-Carter, E.J. y Sherman, P. (1978). Evaluation of the firmness of Leicester cheese by compression test with the Instron Universal Testing Machine. Journal of Texture Studies. 9:311.
- Visser, S. (1981). Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. Netherland Milk Dairy Journal. 35:65.
- Wodecki, E., Budny, J., Hoppe, K.W., Gryzowska, A. y Turowski,

- J. (1984). Effect of water content on the hardenes of Edam cheese. *Journal of Food Engineering*. 3(4):295.
- Zalazar, C.A. y Meinardi, C.A. (1982). Esperienze sulla caesificazione e maturazione del formaggio "Cremoso Argentino". *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*. 33(6):509.

NOMENCLATURA

NOMENCLATURA

A = adhesividad (J)

A_i = coeficientes de la ecuación que ajustó las curvas de relajación

a = área (m^2)

C = cohesividad (adimensional)

c_A = concentración del gas A (moles/ cm^3)

D = dureza (N)

D_r = deformación relativa en la ruptura (%)

\mathcal{D} = coeficiente de difusión para el gas en la membrana (cm^2/seg)

E = módulo elástico (kPa)

E_p = energía de activación para la permeabilidad (kcal/mol)

e = espesor de la película plástica (cm)

F = fuerza (N)

G = caudal gaseoso (moles/seg)

IM = índice de maduración (%)

IP = índice de proteólisis (%)

L = altura de la muestra después de la compresión (cm)

L_0 = altura inicial de la muestra (cm)

M_d = módulo de deformabilidad (kPa)

N_A = flujo del gas A (moles/seg cm^2)

NNP = concentración de nitrógeno no proteico (%)

NS = concentración de nitrógeno soluble (%)

NT = concentración de nitrógeno total (%)

n = número de moles

\mathcal{P} = coeficiente de permeabilidad (moles mil/ m^2 día atm)

P = coeficiente de permeabilidad (cm^3/m^2 día atm)

P^* = coeficiente de permeabilidad (cm^3 mil/ m^2 día atm)

P_0 = constante de la ecuación de Arrhenius aplicada a la permeabilidad (cm^3/m^2 día atm)

p = presión parcial del gas (atm)

p_t = presión total (atm)

R = constante universal de los gases (Kcal/K mol)

S = solubilidad del gas (moles/ cm^3 atm)

T = temperatura ($^{\circ}C$)

t = tiempo (seg)

u = desplazamiento (m)

V = volumen (cm^3)

x = distancia medida sobre la membrana en dirección del flujo (cm)

y = fracción molar del gas

Letras griegas

ϵ = deformación relativa (adimensional)

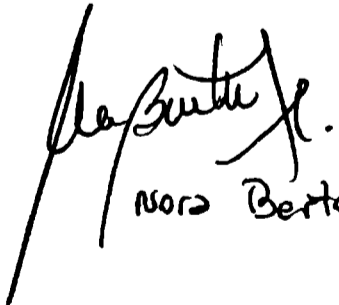
ϵ_v = deformación relativa verdadera (adimensional)

η = viscosidad (Pa seg)

σ = tensión (Pa)

σ_v = tensión verdadera (Pa)

ζ = tiempo de relajación (seg)


Nora Bertola


Dra. NOEMI E. ZARITZKY
DIRECTORA DE INVESTIGACION



FACULTAD DE
INGENIERIA
.....
D.T.O. INGENIERIA QUIMICA
BIBLIOTECA
.....
LA PLATA

