



Universidad Austral de Chile

Escuela de Ingeniería en Alimentos

**Influencia de las Variantes Genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina y la Adición de Suero en Polvo Sobre el Procesamiento de Queso Chanco de Reducida Grasa**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Licenciado en Ciencia de los Alimentos

**Carlos Alejandro Soto Macías**

Valdivia – Chile  
2006

**PROFESOR PATROCINANTE:**

---

Sra. Carmen Brito Contreras  
Ingeniero en Alimentos, M. Sc. Food Science  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

**PROFESORES INFORMANTES:**

---

Sra. Luz Haydeé Molina Carrasco  
Prof. Biología y Química  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

---

Sr. Bernardo Carrillo López  
Ingeniero Agrónomo, Ms. en Ciencia e Ingeniería  
en Alimentos  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

# AGRADECIMIENTOS

*A Dios.*

*A mis padres y hermano, por todo el apoyo que me brindaron.*

*A Inelia y Martincito, por darme la fuerza para seguir adelante.*

*A mi profesora Carmen Brito por toda la colaboración, consejos y amistad que me otorgó durante el desarrollo de esta tesis.*

*A mis profesores informantes Luz Haydeé Molina y Bernardo Carrillo, por la ayuda proporcionada al desarrollo de este trabajo.*

*A mis amigos, por otorgarme su amistad y cariño en todo momento de mi paso por la universidad.*

*A los docentes, secretarias y auxiliares del ICYTAL por su infinita colaboración y ayuda.*

*A Gastón, Marcelo, Marcela, Yasna, Luchito y Jérica, por su invaluable ayuda en la fase experimental de esta tesis.*

## INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Composición química de la leche	3
2.1.1	Proteínas de la leche	4
2.1.1.1	Caseínas	5
2.1.1.2	Proteínas del suero	6
2.1.2	Materia grasa de la leche	7
2.1.3	Calcio en la leche	7
2.2	Polimorfismo genético de las proteínas lácteas	8
2.2.1	$\kappa$ -caseína	8
2.2.2	$\beta$ -lactoglobulina	9
2.2.3	Influencia de las variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y $\beta$ -lactoglobulina sobre la elaboración de queso	11
2.2.4	Determinación de variantes genéticas de proteínas lácteas mediante electroforesis de isoenfoque	12
2.3	Características de los quesos de reducida grasa	13
2.4	Incorporación de suero en polvo en la elaboración de quesos	14
2.5	Adición de cultivo adjunto en la elaboración de quesos	15
2.6	Características del queso Chanco	16
2.6.1	Características fisicoquímicas	16
2.6.2	Características sensoriales	17
2.6.3	Estadísticas de producción de queso Chanco	17
2.7	Rendimiento quesero	18
3	MATERIAL Y MÉTODO	20
3.1	Lugar de trabajo de la etapa experimental	20
3.2	Materias primas	20
3.3	Materiales y equipos	20
3.4	Metodología de trabajo	20
3.4.1	Tratamientos	20
3.4.2	Diseño experimental	21
3.5	Métodos de análisis	21
3.5.1	Análisis de la leche	21
3.5.2	Análisis en proceso de elaboración	22
3.5.3	Análisis en producto terminado	22
3.5.4	Análisis sensorial	23
3.5.5	Análisis estadístico	23
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	24
4.1	Características físicas y químicas de la leche utilizada para la	24

	elaboración de queso Chanco	
4.2	Variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y $\beta$ -lactoglobulina encontradas en la leche para la elaboración de queso Chanco	27
4.3	Proceso de elaboración de queso Chanco	29
4.3.1	Coagulación de la leche	29
4.3.2	Proceso de fermentación	30
4.3.2.1	Evolución de la acidez durante el proceso de elaboración de queso Chanco	31
4.3.2.2	Evolución del pH durante el proceso de elaboración de queso Chanco	34
4.4	Características del producto terminado	36
4.5	Rendimiento práctico al inicio y final de la maduración	38
4.6	Análisis sensorial del producto	42
4.6.1	Color	43
4.6.2	Aroma	44
4.6.3	Gusto	45
4.6.4	Textura	46
4.6.5	Aceptación general	47
5	CONCLUSIONES	49
6	RESUMEN/SUMMARY	51
7	BIBLIOGRAFÍA	53
	ANEXOS	59

**INDICE DE CUADROS**

Cuadro		Página
1	Composición química promedio de la leche de vaca	3
2	Variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y su relación con el contenido de proteínas	9
3	Secuencia aminoacídica de las variantes genéticas de $\beta$ -lactoglobulina	10
4	Variantes genéticas de $\beta$ -lactoglobulina y su relación con el contenido de proteínas	10
5	Efecto de las variantes genéticas de $\kappa$ -caseína sobre las propiedades de coagulación de la leche	11
6	Requisitos fisicoquímicos del queso Chanco	16
7	Producción nacional de leche y queso en período 2000-2005	17
8	Diseño experimental	21
9	Resultados de análisis físicos y químicos realizados a la leche usada en la elaboración de queso Chanco	24
10	Variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y $\beta$ -lactoglobulina encontradas en la leche para elaboración de queso Chanco	28
11	Tiempo de coagulación obtenido en la elaboración de queso Chanco	29
12	Desarrollo de acidez durante el proceso de elaboración de queso Chanco	31
13	Evolución del pH durante la producción de queso Chanco	34
14	Caracterización del producto terminado	36
15	Rendimiento teórico-práctico obtenido en la elaboración de queso Chanco	38
16	Evaluación sensorial del producto terminado	42

**INDICE DE FIGURAS**

Figura		Página
1	Proceso de fermentación observado durante la elaboración de queso Chanco	33
2	Curva de pH durante la producción de queso Chanco	35
3	Rendimiento experimental y teórico obtenido en la producción de queso Chanco al final de la maduración (28 días)	42
4	Color: diferencias y apreciación del panel frente al control T1	43
5	Aroma: diferencias y apreciación del panel frente al control T1	44
6	Gusto: diferencias y apreciación del panel frente al control T1	45
7	Textura: diferencias y apreciación del panel frente al control T1	46
8	Aceptación general de los quesos a los 28 días de maduración	47

**INDICE DE ANEXOS**

Anexo		Página
1	Protocolo de elaboración de queso Chanco	60
2	Protocolo de preparación de suero en polvo	62
3	Protocolo de preparación de cultivo adjunto	63
4	Planilla de control de proceso de elaboración de queso Chanco	64
5	Distancias de migración de variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y $\beta$ -lactoglobulina	65
6	Pauta de evaluación sensorial de queso Chanco	66
7	Planilla de evaluación sensorial de queso Chanco	68
8	Resultados de análisis fisicoquímicos realizados a la leche	69
9	Resultados de análisis fisicoquímicos realizados durante el proceso de elaboración de queso Chanco	70
10	Resultados de análisis fisicoquímicos realizados al producto terminado	71
11	Resultados de evaluación sensorial realizada al producto terminado	72



## 1. INTRODUCCIÓN

La tendencia actual de la industria láctea es a optimizar toda su línea de operación, a fin de aumentar su capacidad productiva. Dentro de esta optimización, el aumento en el rendimiento quesero y el mejoramiento tecnológico del proceso de elaboración de queso, tienen una importante relación con la calidad de la leche como materia prima.

Una leche con alto contenido de proteínas y materia grasa, se asocia a un mayor rendimiento quesero práctico, así por ejemplo, en la actualidad muchas industrias elaboradoras de queso pagan, además de materia grasa, por proteínas en la leche recepcionada.

Cambios en la composición química de la leche, ya sea por adición de suero en polvo o inducidos por cambios en la expresión de las variantes genéticas de las proteínas  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, promueven un mejoramiento del rendimiento quesero por el aumento del contenido de proteínas, materia grasa y calcio.

La hipótesis que se plantea en este estudio corresponde a: “la adición de suero en polvo en la elaboración de queso Chanco, así como también la expresión predominante de la variante genética B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en la leche, tendrán un efecto favorable sobre las propiedades de coagulación de ésta y en el rendimiento quesero práctico, en la elaboración de un queso Chanco reducido en grasa de características sensoriales aceptables”.

El objetivo general de esta investigación es determinar la influencia de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina y la adición de suero en polvo sobre el rendimiento quesero práctico y, en general, sobre el comportamiento del proceso durante la elaboración de queso Chanco de reducida grasa y en el producto terminado.

Los objetivos específicos de este estudio son:

- Determinar la influencia de la adición de suero en polvo y la expresión de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre el tiempo de coagulación y el proceso de fermentación en la elaboración de queso Chanco de reducido tenor graso
- Determinar la influencia de la adición de suero en polvo y la expresión de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre las características fisicoquímicas de un queso Chanco de reducido tenor graso

- Determinar el rendimiento quesero práctico y su relación con la expresión de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina y el agregado de suero en polvo
- Evaluar la calidad organoléptica de los quesos elaborados mediante un análisis sensorial realizado por un panel entrenado de jueces

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Composición química de la leche

La leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior, que se presenta como una emulsión de materia grasa en un medio acuoso que contiene proteínas, lactosa, sales y micronutrientes en solución (ALAIS, 1985 y FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION, FAO, 1999).

**CUADRO 1 Composición química promedio de la leche de vaca.**

Componente	Contenido (%)			
	1	2	3	4
Lactosa	4,90	4,81	5,00	4,80
Materia grasa	3,50	3,52	4,10	3,10
Proteínas	3,40	3,48	3,60	3,40
Minerales	0,90	--	0,70	0,70
Humedad	90,50	88,20	86,60	87,50

FUENTE: (1): ALAIS (1985); (2): LETELIER (1998); (3): FENNEMA (2000); (4): PLAYNE *et al.* (2003).

Como se aprecia en el CUADRO 1, la composición química de la leche varía entre estudios de diversos autores. TORNADIJO *et al.* (1998), explican que ésta cambia en respuesta a una gama de factores genéticos (raza, individuo) y factores no genéticos o ambientales, como la época del año, infecciones, alimentación, etc.

El componente más variable de la leche en términos cuantitativos es la materia grasa, seguido de las proteínas. Los componentes más estables de la leche son la lactosa y los minerales. El contenido de agua de una leche varía entre un 87 y 90% aproximadamente.

Para explicar cómo la variación de un componente de la leche afecta el contenido de otro, autores como LETELIER (1998) e IKONEN *et al.* (2004) han establecido grados de dependencia mutua, encontrando correlaciones de 0,93 y 0,92 respectivamente entre el contenido de proteínas y caseínas de la leche, lo que explica la asociación de altos contenidos de caseínas en leches ricas en proteína total. Otras correlaciones

encontradas por IKONEN **et al.** (2004), mostraron un grado de asociación de 0,63 entre la materia grasa y las proteínas, y de 0,69 entre la grasa y las caseínas, no siendo significativas en términos estadísticos.

Respecto de los factores genéticos que afectan la composición de la leche, BOWERS (1992), señala que la raza de la vaca influirá principalmente en el volumen de leche que produzca y el contenido de grasa y proteínas de esta, así, vacas Jersey o Guernsey producen menos leche que una vaca Holstein, pero esa leche es más rica en proteínas y grasa que la obtenida de esta última raza.

Un factor ambiental muy importante que afecta la composición de la leche es la época del año, que influye principalmente en el contenido de grasa y proteínas de una leche. El fenómeno de variación estacional, a juicio de TORNADIJO **et al.** (1998), tiene relación con la duración del día y la noche en las distintas épocas del año, ya que un estudio realizado en ovejas y cabras, demostró que mientras mayor es el fotoperíodo o duración del día, mayor es la concentración de prolactina y hormona del crecimiento, las que favorecen la producción de leche.

ALAIS (1985) e INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF/FIL (1993), agregan que el contenido de materia grasa y proteínas en la leche es mínimo en verano y máximo en invierno y pareciera ser independiente de la alimentación de las vacas; similar situación ocurre con minerales como el calcio, cuyo contenido mínimo en vacas de Chile se registra en los meses de verano (VERA, 2000).

**2.1.1 Proteínas de la leche.** “Las proteínas son los elementos constitutivos esenciales de toda célula viviente y tienen una gran importancia en la leche y los productos lácteos” (AMIOT, 1991). En su estructura primaria, las proteínas se componen de una secuencia de residuos de aminoácidos en una cadena polipeptídica. De los radicales de cada residuo de aminoácido dependen las propiedades específicas de una proteína, las cuales están íntimamente relacionadas con la mayoría de las propiedades tecnológicas de la leche (ALAIS, 1985).

Dentro de la importancia tecnológica de las proteínas, destaca que todas ellas tienen algún grado de solubilidad en agua, dependiendo de la naturaleza de los residuos de aminoácidos que la compongan, y que estos a su vez se ven afectados por factores ambientales como la temperatura, pH y fuerza iónica, los cuales pueden denaturar las proteínas, alterando su estructura terciaria, secundaria e incluso primaria, rompiendo los distintos tipos de enlaces que dan estabilidad a las proteínas (WALSTRA **et al.**, 1999).

FENNEMA (2000), sostiene que las proteínas de la leche se encuentran en dos fracciones, las caseínas y proteínas del suero. Las primeras suponen el 80% del total de proteínas, el 20% restante corresponde a las seroproteínas. Las caseínas se

destacan por poseer un carácter hidrofóbico, con muchos residuos de prolina y pocos de cisteína y por tener una alta carga negativa, aportada principalmente por los grupos fosfato que la complementan. Las proteínas séricas, se destacan por ser termolábiles e hidrofílicas, propiedades otorgadas por la exposición de sus estructuras secundarias y terciarias, agrupadas en una forma globular.

**2.1.1.1 Caseínas.** Las caseínas son un grupo de proteínas fosforadas que se conocen también como la “proteína insoluble” de la leche, ya que precipita cuando se acidifica a pH 4,6 (ALAIS, 1985).

Según WALSTRA *et al.* (1999) y SMYTH *et al.* (2004), una micela de caseína se caracteriza por poseer un diámetro promedio de 100  $\eta\text{m}$ , un peso de  $10^9$  Da, tener carga neta negativa y contener en su interior minerales como el fósforo y calcio, formando puentes intermicelares, que representan aproximadamente el 7% del peso seco de esta.

Hasta hace poco tiempo, se pensaba que las caseínas eran el reservorio de aminoácidos para el ternero neonato, sin embargo, en la actualidad se piensa que estas juegan un rol importante en la prevención de la calcificación patológica que eventualmente pudiera afectar la glándula mamaria de la vaca (MAZZA, 2000).

Las caseínas se clasifican en cuatro grupos, las  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  y  $\kappa$ -caseína, encontrándose en razón de 4:1:4:1,6 respectivamente. Los otros tipos de caseínas existentes son el resultado de procesos post-traslacionales como la fosforilación, glicosilación o proteólisis (FOX, 1982). Un ejemplo de esto es la caseína  $\gamma$ , la cual se considera un producto de degradación de la caseína  $\beta$ , y que está compuesta por una cantidad de aminoácidos fluctuante entre 29 y 209 residuos de la cadena polipeptídica de la caseína  $\beta$  (WALSTRA *et al.*, 1999).

Dentro de las características relevantes de cada grupo de caseínas, las  $\alpha_{s1}$  se destacan por tener la más alta carga negativa, consecuencia de la mayor presencia de grupos fosfato, las  $\alpha_{s2}$  son las más sensibles a la presencia de calcio, las  $\beta$  son las más hidrofóbicas de todas las caseínas y las  $\kappa$ -caseínas, si bien, no son las más numerosas, poseen propiedades únicas responsables de la estabilidad de la micela entera de caseína, ya que es la única soluble en calcio a todas las temperaturas, y que incorpora glúcidos en dos tercios de sus constituyentes (ALAIS, 1985).

Entender la importancia tecnológica de las caseínas, pasa esencialmente por comprender la naturaleza de la  $\kappa$ -caseína. ECK (1990), sostiene que las  $\kappa$ -caseínas, ricas en serina, se sitúan en el exterior de la micela de caseína, dejando un núcleo hidrofóbico en su interior compuesto por las caseínas  $\alpha$  y  $\beta$ . El aminoácido serina tiene afinidad con el calcio, el cual sirve de enlace entre las submicelas de caseínas,

otorgándole a la caseína completa la propiedad de mantenerse en suspensión en la fase acuosa de la leche.

La coagulación de la leche, que se traduce en la formación de un gel, es el resultado de los cambios fisicoquímicos a nivel de las micelas de caseínas, las cuales pueden ser de naturaleza ácida o enzimática (AMIOT, 1991).

La coagulación ácida, ya sea por adición de ácido o fermentación de la lactosa con producción de ácido láctico, tiene como consecuencia la solubilización del calcio coloidal que forma los puentes intermicelares, alterándose la estructura cuaternaria de las caseínas, que a pH 4,6 alcanzan su mínima solubilidad a causa de la neutralización de todas sus cargas, dando lugar a un gel frágil e hidrofóbico (ECK, 1990).

La coagulación enzimática, según MADRID (1990) y WALSTRA *et al.* (1999), se divide en dos etapas, la fase enzimática y la fase de coagulación propiamente tal. En la primera, el enlace 105–106 (Fen–Met) de la cadena polipeptídica de la  $\kappa$ -caseína, se hidroliza en dos fragmentos, el glicomacropéptido y la paracaseína, como consecuencia de lo frágil de este enlace en términos de exposición a la acción del cuajo y a la alta carga positiva de esa zona en la cadena polipeptídica. Una vez que el 85–90% de las  $\kappa$ -caseínas se han hidrolizado, comienzan a agregarse las moléculas de paracaseína insoluble debido a fuerzas de atracción de Van der Waals y a la presencia de calcio ionizado que une las micelas de paracaseína. Este tipo de coagulación es irreversible.

**2.1.1.2 Proteínas del suero.** Estas proteínas, a diferencia de las caseínas, se caracterizan por encontrarse en solución, ser sensibles a tratamientos más intensos que la pasteurización y estables en un amplio rango de pH (AMIOT, 1991).

WALSTRA *et al.* (1999) y MAZZA (2000), agregan a esta definición que las proteínas séricas se caracterizan en su gran mayoría por ser de forma globular y por tener una distribución de cargas eléctricas homogéneas, lo que las hace insensibles a la acción de la quimosina.

FOX (1982), sostiene que estas proteínas son de mayor valor nutritivo que las caseínas y según la proporción en que se encuentran, se clasifican en el siguiente orden decreciente:

- $\beta$ -lactoglobulina
- $\alpha$ -lactoalbúmina
- Inmunoglobulinas
- Seroalbúmina bovina
- Proteosomas peptonas

MAZZA (2000), comenta que las proteínas séricas se destacan por poseer una función biológica, así por ejemplo, remitiéndose a la  $\alpha$ -lactoalbúmina, esta actúa como coenzima en la síntesis de la lactosa de la leche, fijando también el calcio. De igual forma se destaca el rol de las inmunoglobulinas como agente de repuesta en contra de antígenos específicos que lleguen a la sangre a partir de la cual se obtenga la leche. Respecto del rol biológico de la  $\beta$ -lactoglobulina, ALAIS (1985) señala que “posiblemente sea reguladora del metabolismo del fosfato en la glándula mamaria”.

**2.1.2 Materia grasa de la leche.** La grasa de la leche de vaca es el componente que presenta el mayor porcentaje de variabilidad de todos, principalmente por factores ambientales como la dieta; a su vez, la leche presenta los lípidos más complejos conocidos, en la cual entre el 96–98% de ellos corresponde a triacilgliceroles (FENNEMA, 2000).

AMIOT (1991), define la materia grasa como todas las sustancias que pueden ser extraídas de la leche con solventes no polares como éter o cloroformo. Referente al rol de la grasa en queso, SCOTT (1991), señala que “constituye la fuente a partir de la cual se forman algunos componentes que son los responsables en parte del aroma, el bouquet y la textura de los quesos”.

TUNGJAROENCHAI *et al.* (2004), sostienen que la materia grasa contribuye al sabor del queso de tres diferentes maneras, primero, los lípidos son una fuente importante de ácidos grasos de cadena corta que otorgan sabores al queso o son precursores de sustancias aromáticas; segundo, la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados también contribuyen a las características de sabores y olores del queso y tercero, los lípidos son el solvente para muchos compuestos aromáticos de distinta naturaleza.

MADRID (1990), afirma que el tamaño del glóbulo graso en la leche para fabricación de queso debe ser pequeño, ya que los glóbulos grandes se rompen con facilidad, generando una pérdida mayor de materia grasa en el suero y dándole un aspecto aceitoso al queso debido a la presencia de ácidos grasos libres entre los granos de cuajada.

**2.1.3 Calcio en la leche.** El calcio es el mineral más importante de la leche, encontrándose en ella de dos formas, el 30% en solución y el 70% restante en forma coloidal, en una proporción total de 117 mg/kg de leche (WALSTRA y JENNES, 1984 y MADRID, 1990). ECK (1990), agrega que el calcio micelar de la leche se encuentra en equilibrio con el calcio en solución, pero que este puede pasar de un estado a otro bajo determinadas condiciones ambientales de pH, temperatura y presencia de grupos fosfatos.

A juicio de WALSTRA y JENNES (1984) y SCOTT (1991), las sales más importantes en la elaboración de queso son los fosfatos y citratos de calcio y magnesio, sin

embargo, en lo referente a este último, no contribuye a la formación de la cuajada, pero sí al equilibrio salino de la leche. El fosfato de calcio en cambio, siempre se encuentra en exceso en la leche y es el que participa directamente en la formación de la matriz caseínica del queso, y según la proporción en que se encuentre, afectará el tamaño de las micelas de caseínas formadas. En un gramo de caseína seca, hay 31 mg de calcio y 37 mg de fosfato, de ahí la importancia del calcio en la formación de la cuajada durante la elaboración quesera.

## 2.2 Polimorfismo genético de las proteínas lácteas

El término “polimorfismo genético” de las proteínas se define como la existencia de dos o más fenotipos genéticamente diferentes de una misma proteína (GARDNER y SNUSTAD, 1984).

En esta misma línea, FENNEMA (2000), agrega que las proteínas de la leche presentan polimorfismo genético porque son producto de genes autonómicos, alélicos y predominantes, vale decir, el carácter de esa proteína se obtiene por la herencia de cada progenitor que aporta un gen al cromosoma homólogo.

Las variantes genéticas de una proteína láctea se distinguen sólo por mínimas diferencias en su secuencia aminoacídica, en general, se trata sólo de la sustitución de uno o dos aminoácidos en las cadenas polipeptídicas de las proteínas (ALAIS, 1985). El mismo autor señala que las variantes genéticas de las proteínas lácteas se designan por las letras A, B, C, existiendo individuos homocigóticos AA, BB o CC que producen una sola variante genética e individuos heterocigóticos AB, AC o BC que producen dos variantes genéticas para una proteína, sin embargo, autores como NG-KWAI-HANG **et al.** (2002), aseveran la existencia de más variantes genéticas de proteínas como la  $\beta$ -lactoglobulina, pero que se presentan con una frecuencia muy baja y en ciertas razas lecheras.

**2.2.1  $\kappa$ -caseína.** La secuencia aminoacídica de las variantes genéticas A y B de  $\kappa$ -caseína fue determinada por Grosclaude **et al.** en 1972 y Mercier **et al.** en 1973 (TSIARAS **et al.**, 2005). Para esta proteína, las variantes genéticas comúnmente estudiadas son dos: A y B. Ambas se distinguen sólo de la posición de dos aminoácidos en la cadena polipeptídica, primero, en la posición 136 de la cadena, la  $\kappa$ -caseína A contiene el aminoácido triptófano, mientras que la  $\kappa$ -caseína B posee en esa posición el aminoácido isoleucina. En la posición 148 de la cadena polipeptídica de la  $\kappa$ -caseína A se ubica el ácido aspártico mientras que en la variante B se ubica la alanina. (ALAIS, 1985).

IDF/FIL (1993), afirma que la  $\kappa$ -caseína influye en mayor medida que la  $\beta$ -lactoglobulina en el contenido de proteínas de una leche; dentro de las  $\kappa$ -caseína, el genotipo BB puede aumentar hasta en 0,2 puntos porcentuales el contenido de proteínas con respecto al genotipo AA de la misma, tal situación se hace patente en el CUADRO 2.



**CUADRO 2 Variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y su relación con el contenido de proteínas.**

Variante genética	Frecuencia (%)	Proteína cruda (%)	Caseína / prot. total	$\kappa$ -CN / caseína
$\kappa$ -CN A	64	3,58	0,77	0,15
$\kappa$ -CN AB	32	3,67	0,78	0,16
$\kappa$ -CN B	4	3,76	0,79	0,18

FUENTE: WALSTRA *et al.* (1999).

Del cuadro anterior, se desprende que si bien la  $\kappa$ -caseína B se asocia efectivamente a un mayor contenido de proteínas, se presenta en las vacas con mucha menor frecuencia que la variante A. Otro aspecto importante de resaltar es el que la variante B influye positivamente en el contenido de caseína como parte del total de proteínas de la leche y en el contenido de  $\kappa$ -caseína como parte del total de caseínas, en concordancia con lo reportado por INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF/FIL (2000).

Si bien se ha puesto gran hincapié en el efecto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína sobre el contenido de proteínas y caseínas, el contenido de materia grasa y sólidos totales también se incrementa cuando predomina la variante B de esta proteína (IDF/FIL, 1993).

Respecto de la relación entre el contenido de minerales y las variantes genéticas de esta proteína, CID (2004) encontró diferencias en el contenido de calcio y fósforo entre leches que presentaban la variante A de  $\kappa$ -caseína y leches con la variante B de la misma, con niveles de calcio de 1,08 g/L y 1,11 g/L respectivamente para las variantes A y B, no siendo estadísticamente significativa esta diferencia.

**2.2.2  $\beta$ -lactoglobulina.** Es la proteína sérica más abundante, encontrándose en una concentración estimada en la leche entre 3,0 a 5,5 mg/mL (NG-KWAI-HANG *et al.*, 2002).

El descubrimiento del polimorfismo genético de la  $\beta$ -lactoglobulina se remonta, según TSIARAS *et al.* (2005), al año 1955, con los estudios realizados por Aschaffenburg y Drewry. Esta proteína se presenta en las variantes genéticas A, B, C, D, E, F y G (BELITZ y GROSCH, 1997), sin embargo, no existe concordancia con lo reportado por NG-KWAI-HANG *et al.* (2002), que aseveran la existencia de al menos diez variantes genéticas de esta proteína, siendo las más comunes las A y B y considerándose la variante B como "la variante original" por tener mayor similitud con la  $\beta$ -lactoglobulina de otras especies mamíferas.

**CUADRO 3** Secuencia aminoacídica de las variantes genéticas de  $\beta$ -lactoglobulina.

Variante genética	Posición en la cadena aminoacídica				
	45	59	64	118	158
A			Asp	Val	
B	Glu	Gln	Gly	Ala	Glu
C		His			
D	Gln				
E					Gly

FUENTE: BELITZ y GROSCH (1997).

El análisis del CUADRO 3 muestra que al igual que en la  $\kappa$ -caseína, las variantes genéticas de  $\beta$ -lactoglobulina se diferencian sólo en la sustitución de algunos aminoácidos de la cadena polipeptídica de 162 aminoácidos. A modo de ejemplo, la variante A difiere de la variante B en la posición de dos aminoácidos, en las posiciones 64 y 118, esto es suficiente, según ALAIS (1985), para alterar la carga neta de la proteína, que llevará a cambios en las propiedades fisicoquímicas de la misma.

Asociando cambios en la composición de la leche con las variantes genéticas de esta proteína, HILL (1993) destaca que la variante AA se asocia a altos niveles de proteínas séricas y bajos niveles de caseínas, grasas y sólidos totales, sin embargo, los niveles de proteína total se mantienen constantes, ya que si bien aumenta el contenido de  $\beta$ -lactoglobulina, disminuye el contenido de caseínas y  $\alpha$ -lactoalbúmina.

**CUADRO 4** Variantes genéticas de  $\beta$ -lactoglobulina y su relación con el contenido de proteínas.

Variante genética	Frecuencia (%)	Proteína cruda (%)	Caseína / prot. total	$\kappa$ -CN / caseína
$\beta$ -Lg A	19	3,68	0,77	0,17
$\beta$ -Lg AB	51	3,65	0,78	0,16
$\beta$ -Lg B	30	3,69	0,79	0,16

FUENTE: WALSTRA et al. (1999).

Del análisis del CUADRO 4, se desprende que la influencia de la  $\beta$ -lactoglobulina sobre el contenido de proteína cruda es menor si se compara con la influencia de la  $\kappa$ -

caseína sobre los mismos parámetros expresado en el CUADRO 2. Autores como TSIARAS *et al.* (2005), confirman que sólo existe concordancia en que la  $\kappa$ -caseína influye positiva y significativamente en el contenido de proteína total de una leche. La influencia de la  $\beta$ -lactoglobulina sobre el contenido de caseínas en la leche y la proporción de  $\kappa$ -caseína sobre el total de caseínas es muy leve.

**2.2.3 Influencia de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre la elaboración de queso.** Las variantes genéticas de las proteínas lácteas y su relación con la producción y aptitud para el procesamiento de la misma se han estudiado extensamente. Últimamente, se ha puesto especial énfasis en la selección genética de vacas para la producción de leches aptas para la manufactura de productos lácteos, incluido el queso (WALSH *et al.*, 1995).

Desde 1967 a la fecha, con los primeros estudios que asociaron el tiempo de coagulación de la leche con las variantes genéticas de sus proteínas, se ha estudiado la relevancia del polimorfismo genético sobre la elaboración de queso. Los puntos centrales de estos estudios apuntan a tres aspectos: contenido de proteínas y caseínas, propiedades de coagulación de la leche tales como tiempo de coagulación, firmeza y sinéresis de la cuajada y tercero, el rendimiento quesero y las pérdidas de finos y materia grasa en el queso (IDF/FIL, 1993).

Para BUCHBERGER y DOVC (2000), la aptitud de la leche para la elaboración de queso depende de sus características cualitativas y cuantitativas; dentro de las primeras, la capacidad de coagulación de las caseínas depende del contenido y número de caseínas, pero también del genotipo de estas.

IDF/FIL (2000) comenta que en presencia de  $\kappa$ -caseína B, se necesita un 83% de lisis de las caseínas para agregarse en la formación de la cuajada, contrastando con el 91% necesario para agregarse de las leches con la variante A de  $\kappa$ -caseína. La incorporación conjunta de materia grasa y proteínas en la cuajada es del orden del 80,9% en quesos con el genotipo A de  $\kappa$ -caseína y de un 94,5% en quesos con la variante B de  $\kappa$ -caseína, lo que sin duda aumentaría el rendimiento quesero.

**CUADRO 5 Efecto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína sobre las propiedades de coagulación de la leche.**

Variante genética	AA	AB	BB
Tiempo de coagulación (min)	8,6	7,9	7,1
Consistencia del gel (mm)	39,3	47,0	51,0

FUENTE: Mancheboeuf *et al.* citados por COULON (2004).

Una explicación a lo que se manifiesta en el CUADRO 5 la tiene IDF/FIL (1993), donde se señala que estas propiedades tienen relación con las características de las micelas de caseínas, que varían según el fenotipo de la proteína. Por ejemplo, en leches con el fenotipo B de  $\kappa$ -caseína, se ha observado un tamaño de la micela de caseína mucho menor que para la variante A y un mayor número de  $\kappa$ -caseína, entonces, estas micelas pequeñas están más expuestas a la acción de la quimosina, y al estar en mayor número, forman rápidamente un coágulo de buena firmeza.

Las características sensoriales de los quesos, a juicio de VERDIER *et al.* (2000), no se ven influenciadas por las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína, ya que en queso Saint-Nectaire, no se manifestó sistemáticamente que los cambios fisicoquímicos asociados a variantes fenotípicas de la  $\kappa$ -caseína repercutan en sus cualidades sensoriales.

Referente al rol de la  $\beta$ -lactoglobulina en la elaboración de queso, ALEANDRI *et al.* (1990) sostienen que el fenotipo BB de esta se asocia a altos porcentajes de caseína en la leche, sin embargo, no existe concordancia total en el efecto de esta proteína sobre las propiedades de coagulación de la leche, extrapolable a la elaboración quesera. En un estudio del efecto de las variantes genéticas de esta proteína sobre las propiedades tecnológicas de la leche, BENAVIDES (2003) determinó en leches de vacas Frisón Negro que la variante AB de  $\beta$ -lactoglobulina presenta mejor aptitud a la coagulación, firmeza del gel y drenaje del suero que la variante AA de la misma proteína.

IDF/FIL (1993), estipula que las variantes genéticas de  $\beta$ -lactoglobulina influyen principalmente en el contenido de caseínas y materia grasa, donde se observa un incremento de ellas en presencia del fenotipo B, no observando una influencia dominante en las propiedades de coagulación de la leche.

**2.2.4 Determinación de variantes genéticas de proteínas lácteas mediante electroforesis de isoenfoque.** Como definición general, la electroforesis es la migración de partículas suspendidas en un campo eléctrico (GARDNER y SNUSTAD, 1984).

ALAIS (1985), manifiesta que el principio de la electroforesis se sostiene en el carácter anfotérico de las proteínas y los aminoácidos que la componen, y que el punto isoeléctrico de las proteínas dependerá de la proporción de grupos ionizables laterales.

FREIFELDER (1982), señala que las proteínas, por su carácter anfotérico, tienen la propiedad de que sus cargas eléctricas dependen del pH del medio; se cargan positivamente a bajos pH y negativamente a altos pH. Para cada anfotero, existe un pH en el cual la carga eléctrica es cero, este punto se llama "punto isoeléctrico". Si se tiene una mezcla de proteínas en un campo eléctrico con gradiente de pH, cada proteína se moverá hasta que se sitúe en su punto isoeléctrico dentro del campo, de esta forma,

todas las proteínas de una muestra se separan. Este es el principio de la electroforesis de isoenfoque.

MOLINA **et al.** (2003), utilizando el método de electroforesis de isoenfoque en la identificación de variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína en vacas Jersey y Holstein, encontraron que el punto isoeléctrico de la variante A era de 7,3, en tanto que para la variante B respondía a un punto isoeléctrico entre 7,5 y 7,7, cabe señalar que este punto isoeléctrico dependerá del sistema y las condiciones en que se desarrolla la electroforesis.

### **2.3 Características de los quesos de reducida grasa**

La creciente demanda actual por los quesos de reducida grasa obedece a que los consumidores desean o buscan disminuir el contenido de grasa en su dieta, de tal modo de reducir el riesgo de enfermedades asociadas a un alto consumo de grasa (JOHNSON **et al.**, 1995).

BANKS (2004), comenta que la primera generación de quesos bajos en grasa, especialmente las variedades maduradas de baja humedad, se caracterizaron por tener una textura y sabores atípicos en relación a su equivalente completo en grasa. Estudios realizados sobre queso Cheddar bajo en grasa lo mostraban como un queso seco, excesivamente firme y difícil de masticar, con baja intensidad de sabor y presencia de sabores amargos.

Los quesos de reducida grasa generalmente son inferiores en calidad respecto a un queso con toda su grasa, destacándose dos defectos principalmente, los cuales son un exceso de firmeza del queso y pérdida en el sabor típico; el primer defecto tiene relación con la mayor interacción entre las caseínas presentes en el queso cuando la materia grasa no se aloja en la matriz del queso, y el segundo, se relaciona con el hecho que la grasa es reservorio de diversas sustancias aromáticas solubles en ella y la membrana del glóbulo graso posee lipasas que favorecen la formación de olores y sabores típicos de cada de queso (IDF/FIL, 1993).

La disminución en el contenido graso de un queso no sólo afecta las cualidades sensoriales de este. RUDAN **et al.** (1999), en un estudio sobre queso Mozzarella reducido en grasa, demostraron que la reducción de materia grasa bajo un 15% en este queso provoca una disminución de la humedad en queso desgrasado y en la razón humedad/proteínas; junto con esto, aumenta significativamente la firmeza del queso y disminuye el rendimiento quesero. La capacidad de derretirse cuando se elabora pizza con este queso también disminuye.

KAHYAOGLU **et al.** (2005), aseveran que la reducción del tenor graso de un queso se correlaciona con la disminución del valor L en la escala de colores, que tiene directa relación con la luminosidad de un objeto.

La capacidad de derretirse de un queso Mozzarella, tiene directa relación con el aumento de las interacciones proteicas que se generan en la matriz caseínica y con la disminución de contenido de humedad, afirman McMAHON *et al.* (2005).

BANKS (2004), agrega que en la manufactura de quesos de reducida grasa, con el fin de mejorar su calidad, se debe procurar mantener la mayor humedad posible en el queso, a fin de favorecer sus cualidades sensoriales. Sin embargo, para lograr este propósito, es necesario realizar modificaciones al proceso de elaboración de queso, como por ejemplo, lavar la cuajada con agua fría para provocar la contracción del grano y evitar la salida de agua, o controlar las temperaturas de cocción del grano. Otras formas de mejorar las cualidades sensoriales de los quesos de reducida grasa son la adición de sustitutos grasos (“fat replacers”) o la incorporación de cultivos adjuntos o enzimas exógenas que promuevan la formación de olores y sabores durante la maduración.

#### **2.4 Incorporación de suero en polvo en la elaboración de quesos**

Los imitadores de grasa utilizados en la industria quesera consisten principalmente en proteínas del suero o carbohidratos microparticulados que asimilan las cualidades de la grasa en el queso, atrapando agua y otorgando una sensación de textura al queso similar a uno con toda su grasa (BANKS, 2004). Estos análogos o sustitutos grasos, a juicio de LOBATO *et al.* (1999), deben desarrollar todas las propiedades mecánicas que caracterizan al queso en particular, vale decir, se apeguen a las expectativas sensoriales de los consumidores.

La adición de proteínas séricas denaturadas a la leche para la elaboración de quesos, es el método más promisorio de incremento del rendimiento quesero, ya que a modo de ejemplo, si se incorporara el total de proteínas séricas removidas durante la elaboración de queso Cheddar en el mismo queso, se incrementaría en un 11,55% el rendimiento teórico según la ecuación de Van Slike, aportando una rigidez a la masa similar a la otorgada por las caseínas (IDF/FIL, 1993).

LO y BASTIAN (1998), agregan que la utilización de proteínas séricas en la manufactura del queso se puede llevar a cabo porque estas tienen la capacidad de alojarse en la matriz caseínica de una forma similar a como lo hace la materia grasa; en relación al tamaño de la partícula, STEFFL *et al.* (1999), agregan que este juega un papel crucial en la fuerza que tenga la matriz caseínica recién formada, ya que si esta tienen un tamaño menor a 10  $\mu\text{m}$ , que es el diámetro promedio del poro formado en la matriz caseínica, no se afectará de manera alguna las propiedades de coagulación de la leche.

Autores como FENELON y GUINEE (1997), en lo que respecta a la incorporación de concentrados proteicos microparticulados tales como Dairy Lo<sup>TM</sup>, señalan que estos aumentan el tiempo de coagulación y disminuyen la firmeza de la cuajada; junto con esto, aumenta la humedad del queso y la humedad en queso desgrasado. Esta

aseveración concuerda con lo encontrado por VEGA (2002), quien probó este concentrado en la elaboración de queso Chanco reducido en grasa, obteniendo una muy alta humedad en el tratamiento que incorporaba este concentrado proteico microparticulado.

PUNIDADAS *et al.* (1999), en un estudio en queso Mozzarella determinaron que la adición de proteínas séricas incrementa la base seca del producto como consecuencia del aumento de los sólidos no grasos. Agregan también, que durante la fabricación de este queso con estas proteínas, una parte de ellas se pierden en el desuerado, pero las pérdidas disminuyen cuando se homogeniza las proteínas séricas (suero), ya que quedan mejor retenidas en la matriz caseínica, aumentando también el rendimiento.

En lo que respecta al queso Chanco en particular, ARTEAGA (2004), incorporó suero en polvo en la elaboración de queso Chanco de reducido tenor graso, encontrando una disminución en la proteólisis de las  $\alpha_{s1}$  y  $\beta$ -caseínas y un aumento en la capacidad de retención de agua del queso, sin ver afectado su deshidratación durante la maduración e incrementando el rendimiento quesero. La adición de suero en polvo al 2% no afectó las características sensoriales de este queso en los atributos de firmeza, elasticidad, adhesividad y cohesividad.

La disminución de la tasa de hidrólisis de las caseínas en quesos con suero en polvo, puede deberse, según LO y BASTIAN (1998), al alto nivel de proteínas incorporadas al queso, las cuales dificultan los cambios bioquímicos de las caseínas.

## **2.5 Adición de cultivo adjunto en la elaboración de quesos**

WEINRICHTER *et al.* (2004), apuntan que generalmente en la maduración de quesos semiduros se pueden destacar tres grupos de microorganismos: los starter mesófilos o termófilos, según la variedad de queso, las bacterias ácido lácticas no iniciadoras presentes naturalmente en la leche y finalmente las bacterias ácido lácticas no iniciadoras (cultivos adjuntos) adicionadas a la leche para mejorar propiedades particulares en los quesos, tales como apariencia o aroma o para enmascarar defectos de los quesos producidos por fermentaciones secundarias no deseadas.

Las bacterias lácticas heterofermentativas, como los cultivos adjuntos atenuados, no interfieren en el proceso de fermentación durante la elaboración quesera, y, una vez producida su lisis durante la maduración, liberan enzimas intracelulares que fomentan las reacciones peptidolíticas en la masa del queso, favoreciendo las características sensoriales del queso (BANKS y WILLIAMS, 2004 y WEINRICHTER *et al.*, 2004).

Respecto de las reacciones peptidolíticas, FENELON *et al.* (2002), agregan que la adición de cultivos adjuntos incrementan la concentración de aminoácidos libres durante la maduración del queso Cheddar de reducida grasa, mejorando su sabor, en desmedro de los defectos de amargor y astringencia típicos de un queso Cheddar de

reducida grasa sin la adición de cultivo adjunto. JOHNSON *et al.* (1995), señalan que la adición de cultivos adjuntos puede generar nuevos sabores en quesos o enmascarar sabores no deseables en ellos, sin embargo, la generación de estos sabores acotan TUNGJAROENCHAI *et al.* (2004), no se desarrolla en queso de corta maduración.

Según MADKOR *et al.* (2000), la adición de *Lactobacillus helveticus* como cultivo adjunto en queso Cheddar incrementa el potencial proteolítico durante la maduración, intensificando los sabores sin la generación de sabores amargos no deseables.

## 2.6 Características del queso Chanco

El queso Chanco es un producto de origen chileno, madurado y elaborado con leche pasteurizada de vaca, obtenido por coagulación enzimática coayudado por la acidez desarrollada por cultivos lácticos puros (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN, 1999).

BRITO *et al.* (1995), comentan que el queso Chanco de campo es la variedad de queso madurado típico chileno, que se elaboraba a nivel predial desde la época de la colonia, a partir de leche bovina cruda en ese entonces y con toda su grasa, y aunque es un queso de corta maduración (7 a 21 días), posee un gusto y olor mas o menos intenso y picante.

**2.6.1 Características fisicoquímicas.** Los requisitos fisicoquímicos señalados en la Norma Chilena de queso Chanco se muestran el en CUADRO 6.

**CUADRO 6** Requisitos fisicoquímicos del queso Chanco.

Requisitos	Chanco de campo o de fundo de corta maduración	Queso de campo o de fundo, madurado	Chanco
Humedad (%) m/m	46 - 50	44 – 48	44 – 48
Materia seca (%) m/m	50 - 54	52 – 56	52 – 56
Materia grasa (%) m/m, mínimo	28	28	25
Materia grasa en extracto seco (%) m/m, mínimo	52	50	45
Humedad en queso sin grasa (%) m/m	65 - 69	61 – 67	58 – 66
pH	5,2 – 5,4	5,2 – 5,4	5,2 – 5,4

FUENTE: INN (1999).



**2.6.2 Características sensoriales.** El queso Chanco es un producto de consistencia semiblanda, mantecosa de forma rectangular en bloques de 8 a 11 kg, de lados ligeramente convexos, con cáscara fina, seca y de color exterior amarillo a amarillo pálido. La textura de este queso es abierta, con abundantes ojos mecánicos irregulares, distribuidos uniformemente en su masa interna. El color de su masa es blanca cremosa o amarillo suave (INN, 1999).

BRITO (1999), define al queso Chanco como un producto de forma de bloque plano, rectangular o cuadrado de diversos tamaños, con cáscara de color blanco o amarillo pálido. El queso posee una consistencia mantecosa, de color de masa interna blanco cremoso o amarillo muy suave, sin adición de colorante. El queso, al momento del consumo, tiene una edad entre 10 a 20 días.

**2.6.3 Estadísticas de producción de queso Chanco.** En Chile, el queso Chanco es el segundo en comercialización nacional, detrás del queso Gauda. En términos de volumen, en el año 2004 la producción de queso Gauda llegó a 41.000 toneladas, equivalente al 70% de la producción nacional y en el caso del Chanco, se estimó una producción industrial de más de 12.000 toneladas, equivalente al 20% de la producción nacional quesera (ESNAOLA, 2005). Referente a las pequeñas y medianas empresas, el mismo autor estimó la producción anual de queso Chanco en 12.500 toneladas.

Estadísticas entregadas por CHILE, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS, ODEPA, (2006) indican que la industria quesera ha tenido un aumento en cuanto a la producción el año 2005 respecto a los anteriores, lo que se refleja en el CUADRO 7.

**CUADRO 7 Producción nacional de leche y queso en período 2000 – 2005.**

Año	Recepción en planta (miles de litros.)	Producción de quesos (toneladas)	Leche destinada a queso (%) *
2000	1.447.213	44.718	30,9
2001	1.636.461	50.417	30,8
2002	1.605.392	53.075	33,0
2003	1.563.169	53.037	33,9
2004	1.676.480	58.849	35,1
2005	1.723.253	67.175	39,0

FUENTE: ODEPA (2006).

\* Obtenido a partir del factor de conversión queso: leche (1: 10), según ODEPA (2006).

Del CUADRO 7 se desprende que en los últimos seis años, el incremento en la producción de quesos en Chile ha sido de 22.457 toneladas, lo que significa que 224.570 miles de litros de leche más se han destinado a la elaboración quesera. Considerando que el aumento en la recepción de leche en el mismo período fue de 276.040 miles de litros, se puede concluir que el 81% de la leche recepcionada se destinó para la elaboración de quesos. El porcentaje de leche destinada a la elaboración de queso en Chile sigue la tendencia mundial encontrada por FARKYE (2004), quien señala que alrededor de un tercio de la leche producida en el mundo se destina a la manufactura de queso.

Respecto a las exportaciones, REKAS (2004), afirma que de las 189 toneladas de queso exportadas a Estados Unidos el año 2004, aproximadamente doce toneladas correspondieron al queso tipo Chanco, lo que corresponde al 6,3% del total de queso exportado a ese país. Cabe acotar al respecto que Chile posee una cuota de exportaciones de queso a Estados Unidos de 1.432 toneladas al año 2004, aumentando en un 7% anual, pero las exportaciones chilenas de queso sólo han aprovechado el 13% de esta cuota, existiendo ahí una gran posibilidad de mercado a futuro.

## **2.7 Rendimiento quesero**

IDF/FIL (1993), sostienen que la forma más aceptada de definir el rendimiento quesero práctico es expresándolo como kg de queso obtenidos a partir de 100 kg de leche; bajo este mismo principio, se expresa también como la cantidad necesaria de leche para obtener 100 kg de queso.

Durante la conversión de leche en queso, los componentes de la leche se dividen en dos grupos, aquellos que quedan retenidos en la cuajada y los que se pierden con el suero. El rendimiento quesero depende entonces de la composición química de la leche, de la retención de las caseínas y grasas en la cuajada, de la pérdida de constituyentes en el suero producto del proceso de elaboración del queso y finalmente del contenido de humedad del queso (FARKYE, 2004).

En cuanto a la composición química de la leche, el factor más determinante en el rendimiento quesero es el contenido de caseína, específicamente el contenido de paracaseína formada una vez hidrolizada la  $\kappa$ -caseína en particular, es por esta razón que la mayoría de las fórmulas teóricas de evaluación del rendimiento quesero utilizadas actualmente se basan en el contenido de proteínas de una leche (EMMONS *et al.*, 2003).

Como ya se mencionó en el punto 2.4 de este estudio, la adición de sólidos a la leche favorece el incremento del rendimiento quesero, al respecto, BRITO y ASTETE (1997), sostienen que al aumentar la concentración de sólidos de la leche, aumenta casi proporcionalmente el rendimiento práctico de un queso tipo Maribo, con un alto grado de dependencia mutua entre ambos, del orden de 0,998.

Las variantes genéticas de las proteínas en estudio, también tienen una gran influencia en lo que es el rendimiento quesero, así por ejemplo, CELIK (2004), afirma que el genotipo BB de  $\beta$ -lactoglobulina presente en una leche favorece altos rendimientos en queso blanco turco principalmente por los mayores niveles de materia grasa de la leche y por la mayor retención de grasa del queso, lo que sería beneficioso técnica y económicamente para cualquier industria quesera.

WALSH **et al.** (1998 b), afirman que la  $\kappa$ -caseína BB favorece el rendimiento porque hay un contenido mayor de proteínas en la leche, pero también porque disminuyen las pérdidas de proteínas y materia grasa durante el proceso de elaboración.

ALEANDRI **et al.** (1990), agregan que la firmeza de la cuajada juega un rol también en el rendimiento quesero, ya que cuajadas firmes darán lugar a rendimientos más altos, ahora, relacionándolo con las variantes genéticas de las proteínas en estudio, la  $\kappa$ -caseína BB se asocia a cuajadas más firmes, pero en relación a la  $\beta$ -lactoglobulina, no existe concordancia en qué variante se asocia a cuajadas más firmes.

Refiriéndose a las fórmulas de rendimiento quesero teórico, IDF/FIL (2000), señala que estas tienen muchos usos, tales como:

- Evaluación de un proceso productivo (eficiencia en el rendimiento práctico)
- Efectos de cambios en la composición química de la leche sobre el rendimiento quesero
- Efecto de las pérdidas de grasa y proteínas en el suero sobre el rendimiento quesero

BRITO **et al.** (2002 a), en la evaluación de fórmulas predictivas del rendimiento de queso Gouda chileno, afirman que una de las ventajas prácticas de la utilización de estas es que se podrían detectar deficiencias eventuales que puedan surgir en un proceso productivo quesero y que afecten el rendimiento práctico.

### 3. MATERIAL Y MÉTODO

#### 3.1 Lugar de trabajo de la etapa experimental

La fase experimental de esta tesis se llevó a cabo en la planta piloto del Laboratorio de Procesamiento de la Leche y los análisis fisicoquímicos y sensoriales se llevaron a cabo en las dependencias del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, ICYTAL, de la Universidad Austral de Chile entre los meses de agosto y diciembre del año 2005.

Este estudio es parte del proyecto FONDECYT 1030345, denominado “Innovación tecnológica en procesamiento y calidad de leche (de variantes genéticas) en el desarrollo de queso Chanco de reducido tenor graso para incrementar calidad y rendimientos”, desarrollado entre los años 2003–2005.

#### 3.2 Materias primas

- Leche bovina proveniente del Fundo Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile
- Cultivo mesófilo liofilizado LD–Culture CH–N-22, conteniendo las siguientes cepas: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis* y *Leuconostoc cremoris*, producido por el laboratorio CHR Hansen
- Cultivo termófilo atenuado *Lactobacillus helveticus* CNRZ–32, procedente del “Centre National de Recherche Zootechnique”, de Jouy en Josas, Francia
- Suero en polvo de origen nacional
- Cuajo líquido, cloruro de calcio y sal común

#### 3.3 Materiales y equipos

- Tinas rectangulares de doble pared de 250 L de capacidad
- Liras, agitadores, moldes metálicos, prensa
- Baldes graduados de acero inoxidable
- Tarros lecheros de 50 L de capacidad

#### 3.4 Metodología de trabajo

Los quesos se manufacturaron según el protocolo descrito por BRITO (1999) para elaboración de queso Chanco completo en grasa, pero con las modificaciones necesarias para cada tratamiento (ANEXO 1).

**3.4.1 Tratamientos.** Se realizaron 4 tratamientos con 3 repeticiones, como se detalla a continuación:

**Tratamiento 1 (control):** T1, queso Chanco de reducida grasa elaborado con leche mezcla.

**Tratamiento 2:** T2, queso Chanco de reducida grasa elaborado con leche mezcla, suero en polvo y cultivo adjunto.

**Tratamiento 3:** T3, queso Chanco de reducida grasa elaborado con leche con predominio de variante genética B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina y cultivo adjunto.

**Tratamiento 4:** T4, queso Chanco de reducida grasa elaborado con leche con predominio de variante genética B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, suero en polvo y cultivo adjunto.

En todos los tratamientos, se mantuvo la razón entre materia grasa y sólidos no grasos de 0,192. La descripción de la estandarización de la materia grasa se observa en el ANEXO 2. El protocolo de preparación de cultivo adjunto atenuado se detalla en el ANEXO 3.

**3.4.2 Diseño experimental.** El diseño experimental de este estudio se detalla en el CUADRO 8.

**CUADRO 8** Diseño experimental.

Ensayo	Factores	Respuesta estudiada
Tinas experimentales 1 a 12 *	Variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y $\beta$ -lactoglobulina  Adición de suero en polvo	Proceso de fermentación (Acidez titulable, pH)  Tiempo de corte  Rendimiento teórico y práctico Análisis organoléptico

\* 4 Tratamientos y 3 repeticiones de cada uno.

### 3.5 Métodos de análisis

Los análisis realizados en el desarrollo experimental de la tesis tuvieron como finalidad garantizar la calidad de la leche como materia prima, junto con evaluar las respuestas estudiadas en el proceso de elaboración, producto terminado y la caracterización sensorial de este último.

**3.5.1 Análisis de la leche.** Los análisis referidos a la leche se realizaron una vez obtenida ésta de la ordeña de la mañana del día anterior a la elaboración quesera.

**Determinación**  
Acidez titulable

**Referencia**  
NCh 1738. Of. 1998 c.

pH	Método potenciométrico - NCh 1671. Of. 1979 b.
Materia grasa	Método Gerber–NCh 1016/1. Of. 1998 b.
Nitrógeno total	Método MicroKjeldahl según norma IDF/FIL 20B: 1993 citado por PINTO <b>et al.</b> (1998).
Sólidos totales	IDF/FIL 21B: 1987 citado por PINTO <b>et al.</b> (1998)
Densidad	NCh 1672. Of. 1979 a.
Variantes genéticas de proteínas de la leche	Electroforesis de isoenfoque, según método modificado por CASANOVA (2001).
Células somáticas	Método microscópico de referencia NCh 1746. Of. 1998 a.

**3.5.2 Análisis en proceso de elaboración.** Comprende los análisis realizados desde la adición de la leche a tina hasta la etapa de desuere final.

<b>Determinación</b>	<b>Referencia</b>
Acidez titulable (suero)	NCh 1738. Of. 1998 c.
Tiempo de corte	Método de la mano y cuchillo, descrito por FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION, FAO (1986).

**3.5.3 Análisis en producto terminado.** Comprende los análisis realizados desde la salida de prensa del queso hasta el fin de su período de maduración, a los 28 días.

<b>Determinación</b>	<b>Referencia</b>
pH	Método potenciométrico - NCh 1671. Of. 1979 b.
Materia grasa	Método van Gulik, descrito por PINTO <b>et al.</b> (1998).
Humedad	Método gravimétrico FIL/IDF 4A: 1982 citado por PINTO <b>et al.</b> (1998).
Rendimiento práctico	Peso de la leche usada y el queso obtenido.
Rendimiento teórico	Banks et al. (1984), citados por MENZ (2002).

La ecuación de cálculo del rendimiento teórico se presenta a continuación:

$$R_T = 1,42 * (MG + 1) + P$$

Banks et al. (1984) citados por MENZ (2002)

(ec. 3.1)

Donde:

$R_T$  = rendimiento quesero teórico expresado como kg de queso obtenido por cada 100 kg de leche usada.

MG = % de materia grasa de la leche.

P = % de proteína de la leche.

**3.5.4 Análisis sensorial.** El análisis sensorial se realizó al producto terminado a los 28 días de maduración, mediante la aplicación de una Prueba de Comparación Múltiple que contó con ocho panelistas entrenados. El objetivo de la prueba fue determinar la posible existencia de diferencias entre tratamientos para los atributos de color, aroma, gusto y textura; junto con esto, se determinó si las diferencias observadas por los panelistas eran apreciadas positiva o negativamente, de tal forma de evaluar mejor los factores estudiados. Finalmente se usó una escala hedónica de siete puntos para evaluar la aceptación general de los jueces sobre cada tratamiento. En los ANEXOS 6 y 7 se presentan la pauta y planilla de evaluación sensorial ocupada en este estudio.

**3.5.5 Análisis estadístico.** Los resultados de los análisis fisicoquímicos y las pruebas sensoriales se evaluaron con las siguientes herramientas estadísticas:

- Análisis estadístico descriptivo para todas las variables respuesta
- Test de homoscedasticidad de varianzas de Levene, para validar la aplicación del análisis de varianza
- Análisis de varianza de una vía para establecer si existían diferencias significativas entre los tratamientos para las variables respuesta
- Test de concordancia de Kendall para verificar que el criterio de los jueces fue uniforme
- Análisis de varianza de una vía para establecer la existencia de diferencias significativas en las pruebas sensoriales entre los tratamientos
- Test de Tukey en los casos en que existieran diferencias significativas entre tratamientos
- Test de Games–Howell para la estimación de grupos homogéneos cuando las varianzas poblacionales fueron distintas
- Proporción de diferencia entre el rendimiento práctico y el rendimiento teórico
- Análisis de correlación de Pearson, para estimar el grado de asociación entre el rendimiento teórico y práctico

Para el análisis de los resultados, se utilizó el software SPSS 13.0.

## 4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1 Características físicas y químicas de la leche utilizada para la elaboración de queso Chanco

Entre las características que debe tener una leche para su utilización en quesería, MADRID (1990), sostiene que ésta debe coagular bien con el cuajo, soltar bien el suero, dar un buen rendimiento quesero y ser de buena calidad microbiológica, para obtener quesos de sabor y aroma característico y sin desarrollos microbianos incontrolados que produzcan fermentaciones que desvirtúen aquellas características.

WALSTRA *et al.* (1999), complementan la información anterior con una serie de cualidades que debe cumplir la leche para la elaboración quesera, entre las que se encuentran el contenido de grasa y caseínas y la razón entre éstas, que determina el contenido de grasa en base seca de un queso, el contenido de lactosa, que determina la potencial producción de ácido láctico, pH y contenido de agua de un queso, la ausencia de inhibidores en la leche que afecten el proceso de fermentación en la elaboración quesera, bajos recuentos de células somáticas y finalmente que la leche no tenga sabores ni aromas extraños.

El CUADRO 9 muestra el resumen de las características físicas y químicas de la leche utilizada para la elaboración de queso Chanco en sus cuatro tratamientos.

**CUADRO 9 Resultados de análisis físicos y químicos realizados a la leche usada en la elaboración de queso Chanco.**

Análisis	Tratamientos *			
	1	2	3	4
Leche cruda				
M.G. (%)	3,52 <sup>a</sup>	3,49 <sup>a</sup>	3,27 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>
Sólidos totales (%)	12,09 <sup>a</sup>	12,18 <sup>a</sup>	11,89 <sup>a</sup>	12,11 <sup>a</sup>
Sólidos no grasos (%)	8,57 <sup>a</sup>	8,69 <sup>a</sup>	8,62 <sup>a</sup>	8,59 <sup>a</sup>
Células somáticas/mL	350.772 <sup>a</sup>	294.147 <sup>a</sup>	332.042 <sup>a</sup>	375.627 <sup>a</sup>
Leche estandarizada				
Densidad (g/mL)	1,0298 <sup>a</sup>	1,0300 <sup>a</sup>	1,0305 <sup>a</sup>	1,0295 <sup>a</sup>
pH	6,68 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,68 <sup>a</sup>
Acidez (°Th)	16,50 <sup>a</sup>	17,25 <sup>a</sup>	16,67 <sup>a</sup>	15,99 <sup>a</sup>
M.G. (%) (**)	1,60 <sup>a</sup>	1,92 <sup>ab</sup>	1,62 <sup>a</sup>	1,98 <sup>b</sup>
Proteínas (%)	3,55 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>	3,48 <sup>a</sup>

\* Promedio de tres repeticiones.

\*\* Letras distintas muestran diferencias significativas con un nivel de confianza de 95%.



La materia grasa en leche cruda obtenida en cada tratamiento presenta valores esperables para una leche proveniente de vacas Frisón Negro, cuyo valor promedio, según HAZARD (2005), es de 3,4%. La determinación de este componente se realizó para estandarizar la leche al contenido de materia grasa que establecía cada tratamiento. El análisis estadístico del mismo no arrojó diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre los cuatro tratamientos, presentándose el promedio más bajo en T3 y el más alto en T4.

WALSH **et al.** (1995) no encontraron diferencias significativas entre leches con predominio de la variante BB de  $\kappa$ -caseína con respecto a la variante AA de la misma proteína para la materia grasa en leche cruda, sin embargo, autores como IDF/FIL (1993), asocian la variante B de  $\kappa$ -caseína a un contenido significativamente mayor de materia grasa.

ALEANDRI **et al.** (1990), señalan que leches con la variante BB de  $\beta$ -lactoglobulina presentan alrededor de un 12% más de materia grasa que leches AA de esta misma proteína, esto no se manifestó en el contenido de materia grasa de la leche cruda para los tratamientos elaborados con leche fenotipo (T3 y T4) con respecto a los tratamientos elaborado con leche mezcla (T1 y T2), probablemente debido a que estas últimas responden a una composición heterocigótica AB de esta proteína, puesto que en la identificación de las variantes genéticas de esta proteína sólo se observó una variante a excepción de la repetición R2 del tratamiento T4, donde se identificó una leche heterocigótica BB de esta proteína.

Los sólidos totales de la leche se obtuvieron de modo referencial, para conocer el contenido de sólidos no grasos al restarle el contenido de materia grasa, y así verificar que la razón entre la grasa y los sólidos no grasos de la leche para la elaboración de queso Chanco efectivamente era 0,192, tal como se estableció previamente en el protocolo de preparación de suero en polvo (ANEXO 2). Los sólidos totales de las leches destinadas a cada tratamiento resultaron bajos si se toman en cuenta los valores referenciales de 12,7% señalado por ALAIS (1985) y 13,4% señalado por FENNEMA (2000). El promedio de sólidos totales de los cuatro tratamientos es de 12,07%, no existiendo diferencias significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre tratamientos.

INDA (2000), sostiene que la determinación cuantitativa de células somáticas presentes en la leche cruda es importante en leches destinadas a la elaboración de quesos, ya que altos recuentos de éstas, asociados a problemas de mastitis en la ubre de las vacas, influirán en el porcentaje de recuperación de proteínas y materia grasa durante el procesamiento de la leche para queso, como consecuencia de la acción de enzimas proteolíticas que dañan a las caseínas y la mayor susceptibilidad a la lipólisis de los glóbulos de grasa de la leche.

HAZARD (2005), afirma que en Chile no se especifican legalmente recuentos límites de células somáticas, pero empresas como Soprole bonifican las leches con recuentos

menores a 300.000 leucocitos/mL con un 10% más sobre el precio base. En cuanto a las leches con recuentos superiores a 500.000/mL de células somáticas, estas se castigan en el precio, entendiéndose que es muy difícil elaborar cualquier producto lácteo de calidad con estas leches.

Las leches utilizadas en la elaboración de cada tratamiento no mostraron altos recuentos de células somáticas que inhabiliten su utilización para la elaboración de quesos, ya que no superaron en ningún caso los 400.000 leucocitos/mL, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ).

El pH de las leches de los tratamientos, se encuentra en el rango estipulado en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 2004), que establece valores entre 6,6 y 6,8.

No se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre los tratamientos para el pH de la leche. ALAIS (1985), agrega que las leches tienen una relación débilmente ácida como consecuencia de las caseínas y los aniones fosfóricos y cítricos principalmente.

La acidez de la leche es la suma de su acidez natural y la acidez desarrollada. La acidez natural corresponde en 2/5 partes a las caseínas, igual proporción a sustancias minerales y a los indicios de ácidos orgánicos y el quinto restante, a reacciones secundarias de los fosfatos. La acidez desarrollada de la leche corresponde principalmente a la degradación microbiana de la lactosa (ALAIS, 1985).

El Reglamento Sanitario de los Alimentos (MINSAL, 2004), establece un rango de 12 a 21 mL de hidróxido de sodio 0,1 N/100 mL de leche como acidez permitida para la misma; al respecto, la acidez de la leche utilizada en los cuatro tratamientos responde a esta reglamentación, no manifestándose diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre ellos.

La densidad de la leche en los cuatro tratamientos fluctuó entre 1,0295 y 1,0305 g/mL a 20°C, encontrándose dentro de lo indicado por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (MINSAL, 2004), que establece un intervalo de densidades entre 1,028 y 1,034 g/mL de densidad, medida a 20°C. Este análisis se realizó en la leche estandarizada a fin de estimar el peso de la misma y de esta manera, poder determinar el rendimiento práctico del queso.

En relación a la materia grasa de la leche estandarizada, cabe señalar que en los tratamientos T1 y T3 se logró mantener la materia grasa aproximadamente en 1,6%, lo que equivale a la mitad de la materia grasa que contiene una leche utilizada en la elaboración de un queso Chanco con toda su grasa, y que garantiza una razón entre

materia grasa y sólidos no grasos de 0,192. Los tratamientos T2 y T4, una vez incorporado el suero, alcanzaron un contenido de materia grasa de 1,92 y 1,98% respectivamente.

Las diferencias estadísticas encontradas en este análisis ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) responden a que los tratamientos debían mantener una relación M.G./S.N.G cercana a 0,192, que permitiera aseverar que estos quesos respondieron efectivamente a la categoría de “reducida grasa”.

El contenido de proteínas en la leche estandarizada utilizada en la elaboración de queso Chanco no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre los cuatro tratamientos.

El efecto de las variantes genéticas de las proteínas estudiadas sobre el contenido de proteína total no se manifestó significativamente, como tampoco el incremento de proteínas en los tratamientos T2 y T4, como se esperaba dada la adición de suero en polvo que no tenían los tratamientos T1 y T3.

Dado que no se analizó el contenido de proteínas en las leches antes de la adición de suero en polvo, no es posible determinar fehacientemente si las leches destinadas a los tratamientos T2 y T4 contenían menos proteínas que los tratamientos T1 y T3. En el supuesto que los tratamientos T2 y T4 hayan contenido efectivamente más proteínas que sus pares T1 y T3, puede haber existido error metodológico a la hora del muestreo o análisis de las leches, lo que puede explicar la no existencia de diferencias entre tratamientos.

En general, dado lo expuesto anteriormente, se puede decir que las leches con que se elaboraron los quesos de cada tratamiento, cumplen con los requisitos de calidad fisicoquímicos y microbiológicos que garantizan el enfoque de los resultados de este estudio en los factores estudiados.

El detalle de los resultados de todos los análisis fisicoquímicos realizados a la leche utilizada en la elaboración de cada tratamiento, en sus tres repeticiones, se muestran en el ANEXO 8.

#### **4.2 Variantes genéticas de $\kappa$ -caseína y $\beta$ -lactoglobulina encontradas en la leche para la elaboración de queso Chanco**

En este estudio, se seleccionó un grupo de vacas y se identificó la manifestación de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, para poder obtener leches con predominio de la variante B de ambas proteínas. Mediante la técnica de electroforesis de isoenfoque, se determinó que efectivamente la leche respondiera a lo planteado en cada tratamiento, lo cual se observa en el CUADRO 10.

**CUADRO 10 Variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina encontradas en la leche para elaboración de queso Chanco.**

Tratamientos		Variante genética	
		$\kappa$ -caseína	$\beta$ -lactoglobulina
T1	R1	A	B
	R2	AB	B
	R3	B	B
T2	R1	B	B
	R2	A	B
	R3	AB	BB
T3	R1	B	B
	R2	B	B
	R3	B	B
T4	R1	B	B
	R2	B	BB
	R3	A	B

Los resultados mostrados en el CUADRO 10, para las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína muestran que hubo un predominio de la variante B de esta proteína en la mayoría de las leches destinadas a cada tratamiento. En el caso de los tratamientos T1 y T2, al provenir de leches mezclas representativas de todo el rebaño, se podía esperar indistintamente la expresión predominante de las variantes A o B. Para los tratamientos T3 y T4, se esperaba que se expresara en todas las leches de los tratamientos la variante B de  $\kappa$ -caseína, para corroborar que efectivamente se cumplió con el objetivo del estudio.

La excepción a este análisis la constituyó la tercera repetición del tratamiento T4, donde no se manifestó la presencia de la variante B; esto no significa necesariamente que no se encuentre la variante B en esta muestra, ya que puede tratarse de una leche heterocigótica AB u homocigótica AA, pero el método de electroforesis de isoenfoque empleado en la determinación de las variantes genéticas de esta proteína no permite en todos los casos conocer ambos alelos.

La efectividad del método de electroforesis de isoenfoque radica en los buenos resultados obtenidos en los últimos diez años (Gonzalez de Llano citado por BENAVIDES, 2003), y en que es capaz de distinguir proteínas con diferencias de 0,01 unidades de pH (MOLINA *et al.*, 2003).

La frecuencia con que se presentó la variante B de  $\kappa$ -caseína en los tratamientos T3 y T4 y sus respectivas repeticiones es esperable, dado que estos tratamientos implicaban un predominio de esta variante para las proteínas  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina. La excepción a este hecho la constituyó la repetición tres del tratamiento T4 en la determinación de  $\kappa$ -caseína, donde no se manifestó la variante B,

sin embargo, puede haber correspondido a una leche heterocigótica AB. En el caso de T1 y T2, los resultados muestran una alta frecuencia de la variante B de  $\kappa$ -caseína, sin embargo, al tratarse de leches representativas de todo el rebaño, se esperaba indistintamente la manifestación de la variante A o B de esta proteína.

La determinación de las variantes genéticas  $\beta$ -lactoglobulina en este estudio arrojó que para la totalidad de las leches analizadas se presenta la variante B de esta proteína. Este hecho es esperable para las leches de los tratamientos T3 y T4, que se presentan como leches con predominio de esta variante; en el caso de las leches de los tratamientos T1 y T2, se aplica el mismo criterio explicado para la  $\kappa$ -caseína, vale decir, como estas leches provienen de una mezcla de todas las leches del rebaño, se puede encontrar indistintamente la variante A, B o ambas.

En el ANEXO 5 se muestran las distancias de migración observadas en la identificación de las variantes genéticas de ambas proteínas.

#### 4.3 Proceso de elaboración de queso Chanco

En el desarrollo experimental de esta tesis, se trató de mantener constante los parámetros de tiempo y temperatura para las operaciones involucradas en la elaboración de queso Chanco indicadas en el ANEXO 1, con el fin que los cuatro tratamientos sean comparables, pues se realizaron bajo las mismas condiciones de tratamiento de la leche y cuajada. En el ANEXO 4 se muestra una “planilla tipo” de control de proceso.

**4.3.1 Coagulación de la leche.** Los tiempos de coagulación de la leche para los cuatro tratamientos, se detallan en el CUADRO 11.

**CUADRO 11 Tiempo de coagulación obtenido en la elaboración de queso Chanco.**

Análisis	Tratamientos *			
	1	2	3	4
Tiempo de coagulación (min)	43,33 <sup>a</sup>	41,67 <sup>a</sup>	41,33 <sup>a</sup>	37,33 <sup>a</sup>

\* Promedio de tres repeticiones.

Del CUADRO 11, se desprende la no existencia de diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor > 0,05) entre el tiempo de coagulación promedio de los cuatro tratamientos. Numéricamente, los menores tiempos de coagulación se obtuvieron en T3 y T4, que corresponden a aquellos quesos elaborados a partir de leches en las cuales predominó la variante B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina. Cabe señalar que si bien, existe un efecto positivo asociado al predominio de las variantes genéticas de ambas proteínas en la reducción del tiempo de coagulación, no se puede afirmar que

estas variantes influyan significativamente en este parámetro, debido a que T1 y T2 elaborados con leche mezcla presentaban la variante B de ambas proteínas.

Con respecto a la influencia de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína sobre el tiempo de coagulación, WALSH *et al.* (1998 b), sostienen que la leche homocigótica BB tienen un efecto positivo en la disminución del tiempo de coagulación en la elaboración de queso Cheddar, asociado, según los autores, al menor nivel crítico de hidrólisis de las  $\kappa$ -caseína necesaria para la formación de la cuajada y al mayor contenido de ésta en las leches. Las cuajadas resultantes de estas leches presentan también una mayor firmeza, asociada al menor tamaño de las micelas de caseína, las cuales forman una matriz más compacta y con una mayor cantidad de enlaces intermicelares.

En este estudio, no se manifestó estadísticamente el efecto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína sobre el tiempo de coagulación, una razón para esto es que la leche mezcla utilizada en la elaboración de T1 y T2, dada la diversidad de animales del rebaño, y a los resultados de la electroforesis de isoenfoque en este estudio responde a una leche heterocigótica AB u homocigótica BB para esta proteína.

Entre una leche AB de  $\kappa$ -caseína y una leche con predominio de la variante BB de la misma, según WALSH *et al.* (1998 a) en un estudio sobre el efecto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína en el procesamiento de queso Mozzarella, no existen diferencias significativas pese a que las leches homocigóticas BB presentan efectivamente tiempos más cortos de coagulación de la leche.

VERDIER *et al.* (2000), realizaron un estudio similar al planteado en esta tesis, en el cual estimaban el efecto conjunto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre el procesamiento de queso tipo Saint-Nectaire, en el que se encontró que leches con la variante B de ambas proteínas presentaban diferencias significativas con respecto a leches con la variante A de ambas proteínas en lo referente al menor tiempo de coagulación de las leches homocigóticas BB.

Con respecto al efecto de la adición de suero en polvo sobre el tiempo de coagulación, ANGULO (2005), sostiene que el suero perjudica el tiempo de coagulación en queso Chanco sólo cuando se agrega en proporciones superiores al 4%. En este estudio, el suero se agregó en una proporción de 3%, no manifestándose un efecto detrimental del suero sobre el tiempo de coagulación, por lo tanto, los resultados son consistentes con los obtenidos por este autor y por ROMERO (2005), quien evaluó el efecto de la adición de suero en polvo en proporciones de 3 y 6% sobre el procesamiento de queso Chanco, no encontrando diferencias significativas con respecto a los testigos de queso Chanco completo y de reducida grasa.

**4.3.2 Proceso de fermentación.** La fermentación durante el procesamiento de un queso, es una manifestación de la actividad desarrollada por los cultivos lácticos, los

cuales tienen como primera finalidad la producción de ácido láctico a partir de la lactosa a una tasa controlada. La determinación de la acidez y el pH son la medida analítica para evaluar el desarrollo de este proceso (WALSTRA *et al.*, 1999 y Powell *et al.*, citados por FOX *et al.*, 2003).

**4.3.2.1 Evolución de la acidez durante el proceso de elaboración de queso Chanco.** Con el fin de hacer un seguimiento del proceso de fermentación desarrollado en cada tratamiento y ver la influencia de las variantes genéticas de las proteínas estudiadas y la adición de suero en polvo, se determinó la acidez titulable en las etapas más importantes del tratamiento de la leche y cuajada durante el proceso de elaboración de queso Chanco.

En el CUADRO 12 se muestran los resultados del seguimiento del proceso de fermentación de los tratamientos en estudio mediante la determinación de acidez.

**CUADRO 12 Desarrollo de acidez durante el proceso de elaboración de queso Chanco.**

Análisis	Tratamientos *			
	1	2	3	4
Acidez cultivo mixto (°Th)	86,33 <sup>a</sup>	81,33 <sup>a</sup>	83,67 <sup>a</sup>	83,83 <sup>a</sup>
Acidez cultivo adjunto (°Th)	--	178 <sup>a</sup>	173 <sup>a</sup>	179 <sup>a</sup>
Acidez leche (°Th)	16,50 <sup>a</sup>	17,25 <sup>a</sup>	16,67 <sup>a</sup>	15,99 <sup>a</sup>
Acidez inicio premad. (°Th) (**)	17,33 <sup>a</sup>	21,67 <sup>b</sup>	16,83 <sup>a</sup>	19,33 <sup>ab</sup>
Acidez fin premad. (°Th) (**)	17,50 <sup>a</sup>	21,67 <sup>b</sup>	17,00 <sup>a</sup>	20,66 <sup>b</sup>
Acidez 1ª agitación (°Th) (**)	10,83 <sup>a</sup>	15,08 <sup>b</sup>	10,08 <sup>a</sup>	14,58 <sup>b</sup>
Acidez desuere parcial (°Th) (**)	11,00 <sup>a</sup>	14,83 <sup>b</sup>	10,50 <sup>a</sup>	14,83 <sup>b</sup>
Acidez fin cocimiento (**)	9,50 <sup>ab</sup>	11,83 <sup>bc</sup>	8,83 <sup>a</sup>	12,33 <sup>c</sup>
Acidez post adición cultivo adjunto (°Th) (**)	--	16,67 <sup>b</sup>	13,92 <sup>a</sup>	17,33 <sup>b</sup>
Acidez desuere final (**)	9,33 <sup>a</sup>	16,50 <sup>c</sup>	13,00 <sup>b</sup>	17,33 <sup>c</sup>

\* Promedio de tres repeticiones.

\*\* Letras distintas muestran diferencias significativas con un nivel de confianza de 95%.

Analizando el CUADRO 12, se puede señalar que tanto la acidez del cultivo mixto como del cultivo adjunto, no dió diferencias significativas ( $p$ -valor > 0,05) en su acidez titulable; esta situación es la más adecuada para los fines de este estudio, ya que de esta forma se asegura equidad en la biomasa presente en los cultivos destinados a la elaboración quesera.

Los valores de acidez del cultivo mixto obtenidos en este estudio son levemente inferiores a los estipulados por BRITO (1999), quien remarca que en el control de este cultivo previo a su utilización, debe tener valores de acidez titulable entre 90 a 100°Th.

Una vez incorporado el suero en T2 y T4, se produjo un aumento de acidez en estas leches como consecuencia del aumento de sólidos; este fenómeno se refleja en la acidez al inicio de la premaduración en donde estos tratamientos presentan valores de acidez titulable más altos que los tratamientos que no incorporaron suero en su elaboración. La magnitud del incremento en T2 y T4 una vez agregado el suero es del orden de 4,42 y 3,34<sup>o</sup>Th respectivamente, similar a lo señalado en el estudio de ANGULO (2005), quien encontró incrementos de acidez de 3,0 y 4,3<sup>o</sup>Th, en tratamientos que incorporaron suero en proporciones de 2 y 4% respectivamente.

El incremento de acidez entre el inicio y final de la premaduración de la leche sólo es destacable en T4, donde aumentó su valor en 1,33<sup>o</sup>Th, tendencia que no se mantuvo en el resto de los tratamientos. Sin embargo, no es el objetivo de la premaduración que se produzca un gran desarrollo de acidez en esta etapa, sino sólo ambientar los microorganismos a las nuevas condiciones de temperatura, físicas y químicas que presenta la leche usada (FAO, 1986).

Con respecto a la acidez desarrollada hasta la primera agitación, T1 y T3 presentan una acidez en suero levemente más alta que lo declarado por VEGA (2002) en esta misma etapa, quien obtuvo un valor promedio de acidez para el queso Chanco reducido en grasa de 9,0<sup>o</sup>Th.

En esta etapa ya se reflejan diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor < 0,05) entre los pares T1 – T3 y T2 – T4, siendo este segundo grupo el de valores de acidez más altos, sin embargo, ello no es asociable a una mayor actividad metabólica del cultivo dada la mayor cantidad de sustrato lactosa disponible, sino sólo al mayor nivel de sólidos en la leche que conlleva a una mayor acidez natural de la misma. Esta aseveración se basa en que los cuatro tratamientos, bajo las mismas condiciones de procesamiento, mostraron un mismo diferencial de acidez promedio de 6,57<sup>o</sup>Th entre el fin de la etapa de premaduración de la leche y la primera agitación.

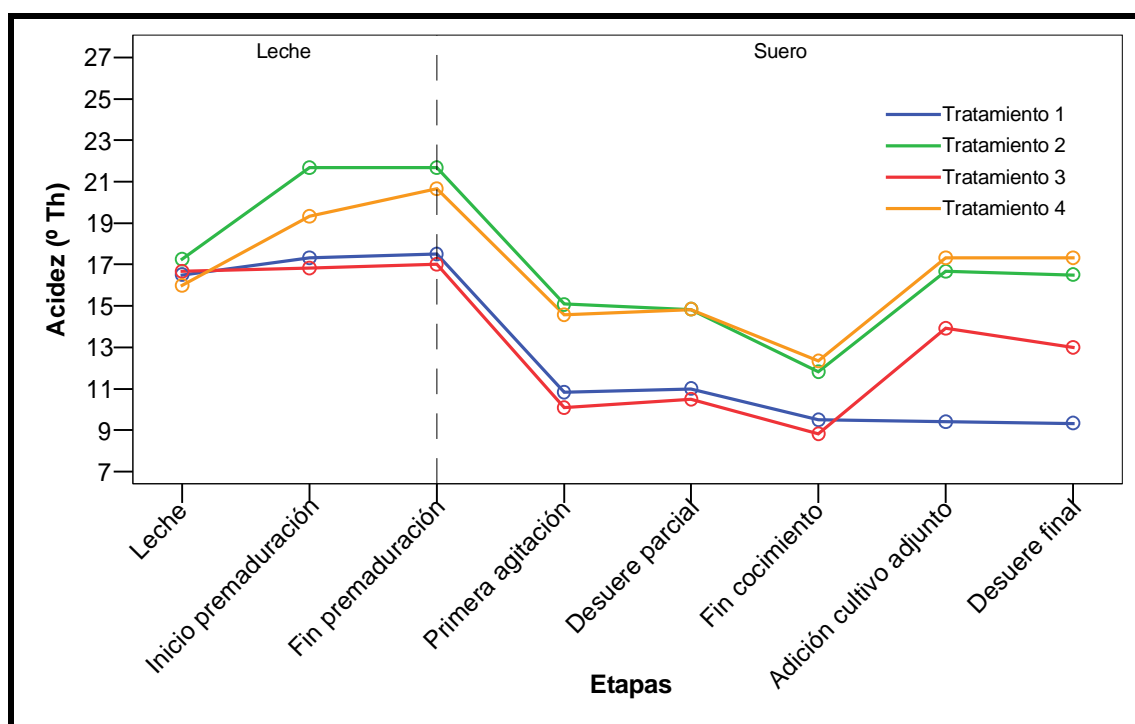
BRITO *et al.* (2002 b), encontraron una acidez de suero al corte para un queso Chanco reducido en grasa, de 10,0<sup>o</sup>Th, similar a lo obtenido en este estudio en T3 y a lo esperado en esta etapa para un queso Chanco con toda su grasa.

La acidez de fin de cocimiento, para los cuatro tratamientos en estudio es inferior que la observada en el desuere parcial, como consecuencia de la adición de agua caliente que diluye sustrato, agente y producto, vale decir, la lactosa, el número de microorganismos presentes y el ácido láctico formado hasta esta etapa. Existen diferencias significativas ( $p$ -valor < 0,05) asociado, tal como se mencionó anteriormente, a la mayor acidez natural de los tratamientos con suero en polvo.

En el desuere final, el tratamiento control T1 presenta valores de acidez más altos que lo obtenido en el mismo tratamiento por VEGA (2002) y ROMERO (2005). Resulta



difícil comparar la acidez real de los tratamientos T2, T3 y T4, ya que la adición de cultivo adjunto posterior al fin del cocimiento, elevó “artificialmente” este valor debido a la acidez natural del propio cultivo, sin embargo, prácticamente no existen diferencias en el desarrollo de acidez entre la acidez post adición de cultivo adjunto y el desuere final, vale decir, el incremento de acidez (5°Th) al adicionar el cultivo adjunto, se mantiene prácticamente invariable hasta el final del proceso.



**FIGURA 1** Proceso de fermentación observado durante la elaboración de queso Chanco.

De la FIGURA 1, se aprecia claramente que en las curvas de fermentación no existen diferencias asociadas al efecto de las variantes genéticas de las proteínas estudiadas, ya que las curvas T1-T3, así como T2-T4, son prácticamente iguales antes de la adición de cultivo adjunto.

El efecto del suero en polvo adicionado a la leche natural se observa claramente, al presentar T2 y T4 valores de acidez más altos en todo el proceso de elaboración. La magnitud de la diferencia se mantiene hasta el fin del cocimiento, ya que posteriormente los valores se encuentran alterados por el aumento de acidez en aproximadamente 5°Th debido a la adición de cultivo adjunto en T2, T3 y T4. Consecuentemente, en T2 y T4 no se manifiesta una mayor actividad metabólica del cultivo mixto debido a la mayor concentración de lactosa en la leche hasta la etapa del desuere final, no obstante la actividad continúa durante el período de maduración.

**4.3.2.2 Evolución del pH durante el proceso de elaboración de queso Chanco.** El CUADRO 13 resume el proceso de elaboración en este estudio.

**CUADRO 13 Evolución del pH durante la producción de queso Chanco.**

Análisis	Tratamientos *			
	1	2	3	4
pH leche	6,68 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	6,68 <sup>a</sup>
pH prensa	5,98 <sup>a</sup>	5,66 <sup>a</sup>	5,91 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>
pH 24 horas	5,39 <sup>a</sup>	5,34 <sup>a</sup>	5,39 <sup>a</sup>	5,52 <sup>a</sup>
pH inicio maduración (**)	5,31 <sup>a</sup>	5,08 <sup>b</sup>	5,32 <sup>a</sup>	5,10 <sup>b</sup>
Diferencia pH 24 horas – inicio maduración	- 0,08	- 0,26	- 0,07	- 0,42
pH fin maduración (**)	5,33 <sup>a</sup>	5,04 <sup>b</sup>	5,33 <sup>a</sup>	5,05 <sup>b</sup>
Diferencia pH fin – inicio maduración	+ 0,02	- 0,04	+ 0,01	- 0,05

\* Promedio de tres repeticiones.

\*\* Letras distintas muestran diferencias significativas con un nivel de confianza de 95%.

En el pH prensa, se observa que T2 está un poco por debajo de las medias del resto de los tratamientos, sin embargo, estadísticamente esta diferencia no es significativa ( $p$ -valor  $> 0,05$ ). Este fenómeno puede tener sus causas en que las condiciones de humedad y temperatura en la masa de la cuajada durante el prensado del queso fueron más favorables para los quesos del tratamiento T2, no así para el tratamiento T4 que también incorporaba suero.

FAO, (1986), sostiene que el mayor descenso de pH se produce entre el comienzo de la elaboración y la salida del queso de prensa, estimando que para un queso Gouda corresponde a 0,94 unidades de pH. En este estudio, el mayor descenso lo registra T2, con 1,03 unidades de pH y el menor descenso lo registra T1, con 0,7 unidades de pH.

Los valores de pH prensa obtenidos en este estudio, salvo T2, se acogen a lo encontrado por BRITO *et al.* (1996), quienes registran valores de pH a la salida de prensa para un queso Chanco normal entre 5,8 a 6,0.

En relación al pH a las 24 horas, T2 registra el menor pH, siendo no significativa esta diferencia con los restantes tres tratamientos ( $p$ -valor  $> 0,05$ ). El descenso entre el pH de la leche y el pH a las 24 horas, fluctúa entre 1,16 para T4 y 1,35 para T2, inferior a lo manifestado por FAO, (1986), que para quesos semiduros señalan un descenso de 1,4 unidades de pH. Entre las 24 horas y el inicio de la maduración (tercer día de elaborado los quesos), el pH siguió disminuyendo en todos los tratamientos, siendo más pronunciado este descenso en los tratamientos con suero en polvo (T2 y T4).

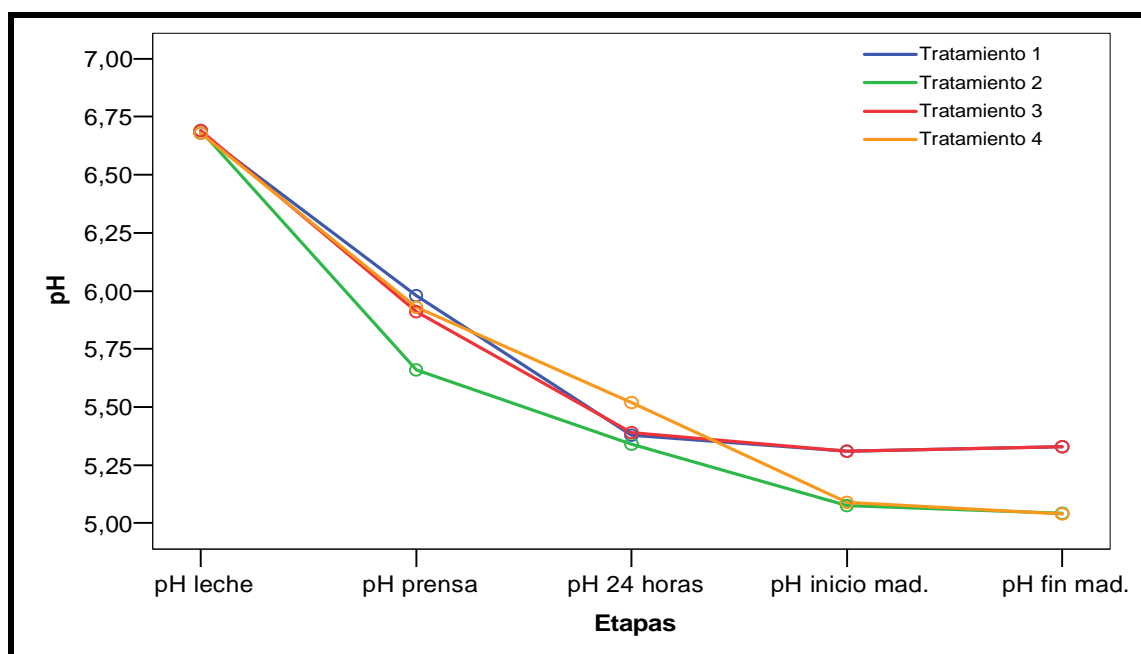
FAO (1986), asevera que el mínimo valor de pH para un queso de estas características se encuentra a las 24 horas, o a lo más, dos o tres días después. Este hecho se

manifiesta sólo en T1 y T3, ya que estos quesos alcanzan su mínimo pH al inicio de la maduración, no es el caso de T2 y T4, cuyo pH siguió disminuyendo acorde avanzó la maduración, lo que indica claramente que el suero tiene un papel preponderante en este fenómeno inusual en un queso Chanco de reducida grasa. Una explicación a este hecho puede tener relación con que la producción de ácido láctico prosiguió pasado las 24 horas y el inicio de maduración, dado que los microorganismos productores de ácido láctico disponían de más lactosa que en los tratamientos T1 y T3.

Englobando el rol de la lactosa en las características del queso Chanco, no se apreció que esta influyera en el proceso de elaboración propiamente tal, al no observarse un aumento de acidez desarrollada por los cultivos en T2 y T4 hasta el desuere final, pero su efecto comienza a notarse una vez que el queso comenzó su etapa de maduración.

Tanto para el inicio como final de la maduración de los quesos de este estudio, se observan diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) entre los quesos con incorporación de suero el polvo (T2 y T4) y aquellos en que no se había incorporado (T1 y T3). Al fin de la maduración, sólo T1 y T3 están en el rango de pH establecido en la Norma Chilena del queso Chanco (INN, 1999), cuyo intervalo oscila entre 5,2 y 5,4. Los quesos elaborados con suero no se acogen a este rango, ya que se observa que hubo una mayor producción de ácido láctico que influyó en esta baja sustancial de pH.

En la FIGURA 2 se muestra gráficamente lo expuesto anteriormente, desde el inicio de la elaboración de queso Chanco hasta el pH del producto terminado.



**FIGURA 2** Curva de pH durante la producción de queso Chanco.

Luego de las 24 horas, no hubo un aumento de pH como consecuencia de la formación de lactato de calcio en los tratamientos T2 y T4; este fenómeno se produjo muy levemente en T1 y T3.

Los quesos con suero, presentan curvas más bajas de pH, ya que éste favoreció la retención de humedad y otorgó mayor cantidad de sustrato lactosa a la masa, así como también se incrementó el número de microorganismos, lo que se tradujo en la formación de mayor cantidad de ácido láctico.

El pH de los quesos con suero fue más bajo al término de la maduración que T1 y T3, lo que resultó en quesos más ácidos y húmedos que explican porqué estos quesos presentan defectos en sus atributos sensoriales, como se mencionará en el punto 4.6 de este estudio.

En cuanto a la influencia de las variantes genéticas de las proteínas en estudio, no se observa una relación con el pH de los quesos en ninguna de las etapas de medición, ya que observando el comportamiento de T1 y T3 durante la elaboración y maduración de queso Chanco se aprecia que las curvas de pH son casi idénticas en su comportamiento.

Según WALSH *et al.* (1998 b), los quesos elaborados con leche en que predomina la variante B de  $\kappa$ -caseína no arroja diferencias significativas con quesos elaborados con la variante A de esta proteína, de igual manera a lo que expresan los resultados de este estudio para el análisis de pH.

#### 4.4 Características del producto terminado

A los 28 días de maduración, se realizó la caracterización fisicoquímica del producto terminado, que se visualiza en el CUADRO 14.

**CUADRO 14 Caracterización del producto terminado.**

Análisis (%)	Tratamientos *			
	1	2	3	4
Humedad	50,45 <sup>a</sup>	52,21 <sup>a</sup>	50,51 <sup>a</sup>	51,54 <sup>a</sup>
Extracto seco	49,55 <sup>a</sup>	47,79 <sup>a</sup>	49,49 <sup>a</sup>	48,46 <sup>a</sup>
Materia grasa	16,67 <sup>a</sup>	17,33 <sup>a</sup>	16,45 <sup>a</sup>	17,82 <sup>a</sup>
MG/BS (**)	33,65 <sup>a</sup>	36,27 <sup>a</sup>	33,23 <sup>a</sup>	36,66 <sup>a</sup>
Hum/QDG (***)	60,54 <sup>a</sup>	63,12 <sup>a</sup>	60,45 <sup>a</sup>	62,68 <sup>a</sup>

\* Promedio de tres repeticiones.

\*\* MG/BS: Materia grasa en base seca.

\*\*\* Hum/QDG: Humedad en queso desgrasado.

Respecto de la humedad, los quesos elaborados con suero presentan numéricamente un mayor contenido de humedad, como consecuencia del aumento en la capacidad de retención de agua otorgada por los sólidos del suero, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p$ -valor  $> 0,05$ ).

No se observa influencia de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre este parámetro. Al comparar los valores de los cuatro tratamientos con lo estipulado en la Norma Chilena de Queso Chanco (INN, 1999), la humedad promedio de todos los tratamientos se encuentra sobre el rango estipulado, que va de 44 a 48%.

SALAZAR (2005), evaluando este atributo en queso Chanco con adición de suero en polvo al 3%, encontró una humedad de 53,38%, superior a lo obtenido en este estudio para los tratamientos T2 y T4, que incorporaron suero en la misma proporción.

El hecho que los cuatro tratamientos de queso Chanco reducido en grasa de este estudio presenten una humedad superior a lo esperado para un queso Chanco con toda su grasa concuerda con lo señalado por BANKS (2004), quien afirma que un queso Cheddar reducido en grasa ve aumentado su contenido de proteínas y humedad, pero ve disminuida la concentración de humedad en sustancias no grasas respecto a un control de grasa normal.

La mayor humedad en estos quesos se da ya que la materia grasa compite con el agua por alojarse en la matriz caseínica. Tal afirmación es confirmada por TUNGJAROENCHAI *et al.* (2004), quienes observaron en quesos Edam incrementos del 4% de humedad cuando se redujo la materia grasa en un 33%.

No es posible comparar el contenido de materia grasa de estos tratamientos con lo que establece la Norma Chilena de Queso Chanco (INN, 1999), ya que esta sólo se refiere al queso Chanco completo en grasa. No se observan diferencias significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre los cuatro tratamientos.

Respecto de la influencia de las variantes genéticas de las proteínas en estudio sobre la retención de materia grasa en queso, MAYER *et al.* (1997) sostienen que la variante B de  $\beta$ -lactoglobulina favorece la mayor retención de grasa en el queso, de la misma forma que WALSH *et al.* (1998 a), afirman que la variante B de  $\kappa$ -caseína favorece la retención de materia grasa en el queso dado las menores pérdidas de este componente en el suero. Al no existir diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) en el contenido de materia grasa del queso, no es posible establecer alguna relación con este factor.

La materia grasa en base seca de los quesos obtenidos en este estudio no es comparable con lo señalado por la Norma Chilena de Queso Chanco (INN, 1999), al

tratarse de quesos de reducida grasa. Si se comparan los valores obtenidos en este estudio con los resultados de VEGA (2002), se puede señalar la similitud entre T3 (33,23%) y el mismo tratamiento de queso Chanco reducido en grasa (1,6%), en el que obtuvo un 33,26% de materia grasa en base seca.

La materia grasa en base seca de los cuatro tratamientos no muestra significativamente la influencia de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, lo que no concuerda con lo encontrado por WALSH *et al.* (1998 a), quienes encontraron que quesos Mozzarella elaborados con leches en que predominó la variante B de  $\kappa$ -caseína muestran un mayor porcentaje de materia grasa en base seca como consecuencia de las menores pérdidas de grasa en el suero. Finalmente, no se observa una relación entre el contenido de materia grasa en base seca y la adición de suero en polvo en los tratamientos T2 y T4.

La humedad en queso desgrasado, como indicador de la capacidad de las proteínas presentes para retener agua en el queso, no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor > 0,05) entre tratamientos. Numéricamente, este parámetro resultó mayor en los tratamientos que incorporaron suero (T2 y T4), lo que se puede relacionar de cierta forma con el aumento en la cantidad de proteínas capaces de retener agua, dada la naturaleza hidrofílica de las proteínas del suero agregadas.

Los cuatro tratamientos se encuentran dentro del rango establecido por la Norma Chilena de queso Chanco (INN, 1999) para el atributo de humedad en queso desgrasado, cuyo rango oscila entre 58 y 66%.

#### 4.5 Rendimiento práctico al inicio y final de la maduración

El CUADRO 15 muestra el resumen de los rendimientos experimentales obtenidos en el desarrollo de este estudio.

**CUADRO 15 Rendimiento teórico-práctico obtenido en la elaboración de queso Chanco.**

Análisis	Tratamientos *			
	1	2	3	4
RPIM (kg queso/100 kg leche) (**)	9,08 <sup>a</sup>	10,11 <sup>b</sup>	9,00 <sup>a</sup>	9,84 <sup>ab</sup>
RPFM (kg queso/100 kg leche) (**)	8,25 <sup>a</sup>	8,92 <sup>b</sup>	8,48 <sup>ab</sup>	9,08 <sup>b</sup>
Rendimiento teórico fin maduración (kg queso/100 kg leche)	7,24 <sup>a</sup>	7,64 <sup>a</sup>	7,29 <sup>a</sup>	7,71 <sup>a</sup>
Eficiencia de rendimiento fin maduración (%)	114,0	116,8	116,3	117,8

\* Promedio de tres repeticiones.

\*\* Letras distintas muestran diferencias significativas con un nivel de confianza de 95%.

RPIM: Rendimiento práctico inicio maduración.

RPFM: Rendimiento práctico fin maduración.

En el CUADRO 15, se observa que el rendimiento práctico al inicio de la maduración muestra dos grupos con diferencias significativas al 95% de confianza ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). El primer grupo involucra a los tratamientos T1, T3 y T4, el segundo, a T2 y T4.

No existen diferencias estadísticas en cuanto a los tratamientos elaborados con leche mezcla de los tratamientos elaborados con leche con predominio de la variante B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, probablemente debido a que, como se observó en el CUADRO 10, las leches destinadas a la elaboración de T1 y T2, presentan en una alta frecuencia la variante B de ambas proteínas.

BUCHBERGER y DOVC (2000), coinciden en asociar altos rendimientos a quesos elaborados con leche que contiene la variante B de  $\kappa$ -caseína, sin embargo, existe discrepancia con respecto a la variante B de  $\beta$ -lactoglobulina, ya que estos autores asocian la variante B a altos rendimientos, lo que no es totalmente aceptado, dado que MAYER *et al.* (1997), encontraron altos rendimientos asociados a la variante A de esta proteína, sin embargo, ellos consideran insuficiente estudiar el efecto de una sola proteína en particular sobre una determinada propiedad, se debe estudiar la interacción de las proteínas lácteas para la obtención de mejores resultados.

VERDIER *et al.* (2000), encontraron que para quesos Saint-Nectaire, la variante A de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en la leche de proceso presentó un mayor rendimiento al inicio de la maduración que leches con la variante B, discordante de lo obtenido por WALSH *et al.* (1995), que en queso Cheddar demostraron el positivo efecto de la variante B de  $\kappa$ -caseína sobre el rendimiento quesero dada la mayor retención de grasa de la matriz del queso.

Comparando los resultados de este estudio con los obtenidos por VEGA (2002), el rendimiento del tratamiento control T1, reducido en grasa, al inicio de la maduración fue de 9,08 kg queso/ 100 kg de leche, casi igual a los 9,0 kg de queso/100 kg de leche obtenidos por este autor. De igual forma, la pérdida de humedad en el queso control T1 entre el inicio y final de la maduración fue de 9,14%, cercano al 10,0% de pérdida de humedad observada por VEGA (2002) para el mismo tratamiento.

ROMERO (2005), en un estudio sobre queso Chanco elaborado con 3% de suero, al mismo nivel que T2 y T4 de este estudio, al inicio de la maduración registró un rendimiento de 10,937 kg queso/100 kg leche, superior a lo obtenido en este estudio en los tratamientos con suero, que fue de 10,11 y 9,84 kg queso/100 kg leche respectivamente.

El rendimiento práctico al final de la maduración, muestra que el tratamiento T3, elaborado con leche con predominio de la variante B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, presenta un rendimiento mayor en números que su par T1, sin embargo, tal diferencia no es significativa ( $p$ -valor  $> 0,05$ ).

Este hecho no coincide con lo estudiado por autores como BUCHBERGER y DOVC (2000), quienes aseguran que para una gran variedad de quesos como Cheddar, Camembert, Svecia y Parmigiano existen diferencias significativas a distintos niveles de confianza en favor de los quesos elaborados a partir de leches con la variante B de  $\kappa$ -caseína.

La explicación a la no existencia de diferencias significativas en los rendimientos entre los pares de tratamientos T2 – T4 y T1 – T3, se debe a que la leche mezcla utilizada para esta elaboración, respondería a una composición alélica heterocigótica de las dos proteínas estudiadas.

BRITO *et al.* (2002 b), para un queso Chanco de reducida grasa, similar a T1 en este estudio, obtuvieron un rendimiento al final de la maduración de sólo 7,34 kg queso/100 kg leche, inferior al rendimiento de T1 obtenido en este estudio y a T3, elaborado con leche fenotipo.

Los tratamientos T2 y T4, adicionados de suero en polvo muestran al final del período de maduración diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) con respecto al tratamiento control reducido en grasa T1, aunque tales diferencias no existen al compararlos con T3.

El rendimiento más alto al final de la maduración correspondió a T4, tratamiento que hipotéticamente debía tener un rendimiento alto dado la incorporación de suero en polvo y el predominio de la variante B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina.

Comparando el tratamiento T4 con T2, se observa cerca de un 2% más de rendimiento a favor de T4. Si se compara T4 con el control T1, la diferencia de rendimiento se eleva a un 9,15% lo que tiene un gran valor económico para la industria quesera.

Los tratamientos T2 y T4 de este estudio, al haber incorporado suero en polvo en su elaboración aumentaron su valor nutricional y el rendimiento quesero.

ANGULO (2005) hace hincapié en que si bien mientras más alta sea la cantidad de suero en polvo agregado al queso Chanco, mayor será el rendimiento quesero, existen factores organolépticos que limitarán su utilización a cantidades definidas, a fin de no alterar las características típicas de esta variedad de queso.

El rendimiento teórico obtenido en este estudio, es más bajo que lo obtenido prácticamente al final de la maduración, instancia donde se relacionan ambos. Los valores obtenidos teóricamente no se correlacionan significativamente con el rendimiento práctico al final de la maduración, vale decir, no sirvió para explicar el



comportamiento del rendimiento práctico en base a la materia grasa y proteínas de la leche estandarizada.

El coeficiente de correlación de Pearson entre el rendimiento teórico y el rendimiento práctico al final de la maduración, es de 0,544, no siendo estadísticamente significativo. MENZ (2002), utilizando la misma fórmula para el cálculo de rendimiento teórico de queso Chanco con toda su grasa, encontró una correlación de 0,708 entre el rendimiento práctico y teórico, superior a lo encontrado en este estudio para la estimación de la misma asociación.

Entre las causas que pueden haber afectado el bajo coeficiente de correlación obtenido en este estudio entre rendimientos teórico y práctico, está el hecho que la razón entre la materia grasa y los sólidos no grasos para un queso Chanco normal es el doble de la que se utilizó en el queso Chanco de reducida grasa.

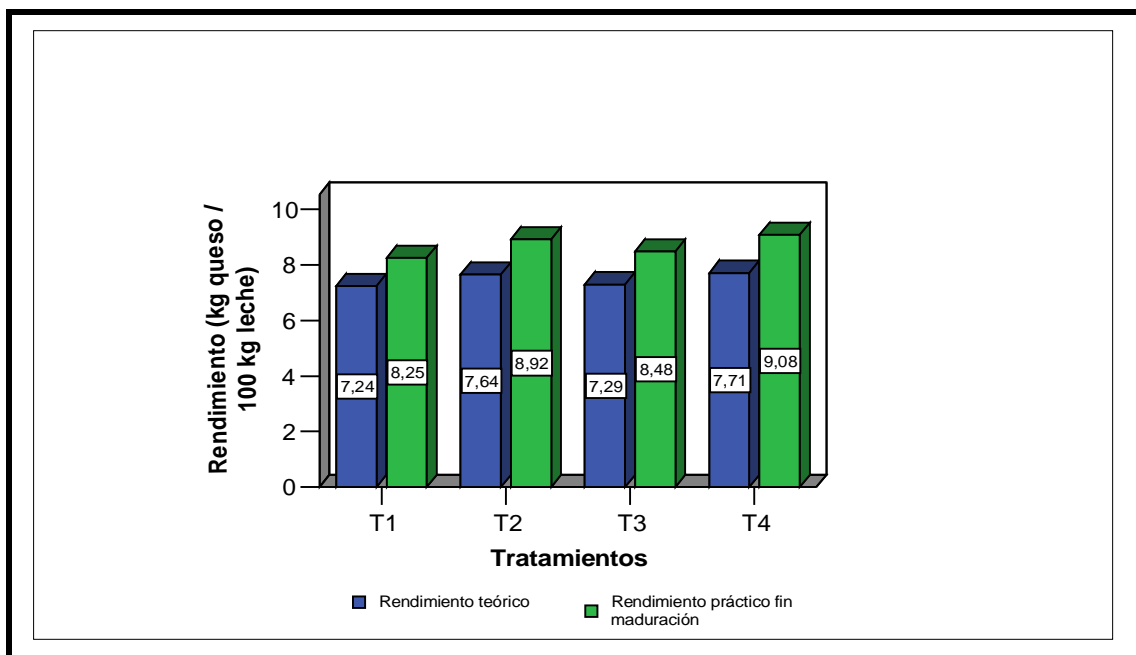
BANKS *et al.* (1984) explican que las fórmulas predictivas de rendimiento queso sustentan su efectividad en mantener una normal variación estacional de la composición de la leche y también en una óptima relación entre proteínas y materia grasa que garantice la homogeneidad entre diferentes partidas de queso.

Finalmente, respecto a la eficiencia del rendimiento, esta es una medida de cuanto se ajusta el rendimiento práctico al final de la maduración respecto del rendimiento teórico, así, se puede apreciar, que el rendimiento práctico fue superior al teórico, al ser la eficiencia expresada como la razón porcentual del rendimiento práctico al final de la maduración sobre el rendimiento teórico.

La causa del sobredimensionamiento en la eficiencia del rendimiento, podría ser que la fórmula predictiva de rendimiento teórico no es aplicable en los quesos de reducida grasa.

Los quesos de este estudio poseen una razón entre materia grasa y sólidos no grasos menor a la que utilizó MENZ (2002) en la evaluación de fórmulas predictivas para queso Chaco industrial, fuera de ello, en T2 y T4 se incrementó el contenido de sólidos no grasos con capacidad de retención de agua (proteínas, lactosa), sumado a la disminución del contenido de materia grasa en la matriz del queso, lo que hace que retenga una mayor cantidad de agua y que se contraponga a la funcionalidad de uso de las fórmulas predictivas que son más efectivas en un rango de humedad determinado.

En la FIGURA 3, se observa gráficamente las diferencias de valores entre el rendimiento práctico al final de la maduración en comparación al rendimiento teórico, como resumen de todo lo expuesto anteriormente.



**FIGURA 3 Rendimiento experimental y teórico obtenido en la producción de queso Chanco al final de la maduración (28 días).**

#### 4.6 Análisis sensorial del producto

En este estudio, se realizó una evaluación sensorial a los quesos, con el objetivo de detectar diferencias en los tratamientos T2, T3 y T4 con respecto a T1 en los atributos de color, aroma, gusto y textura. Se utilizó para ello una prueba de comparación múltiple con un panel entrenado de ocho jueces y junto con ésta, se realizó una prueba de escala hedónica para evaluar la aceptación general de los tratamientos.

#### CUADRO 16 Evaluación sensorial del producto terminado.

Tratamientos	Color *		Aroma *		Gusto *		Textura *		Acep. Gral (3)
	(1) **	(2) **	(1)	(2) **	(1)	(2)	(1) **	(2) **	
1									5,54 <sup>a</sup>
2	1,67 <sup>a</sup>	-0,83 <sup>b</sup>	1,54 <sup>a</sup>	-0,58 <sup>b</sup>	2,00 <sup>a</sup>	-0,04 <sup>a</sup>	2,25 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	3,90 <sup>b</sup>
3	0,75 <sup>b</sup>	0,21 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	1,08 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>	5,08 <sup>a</sup>
4	1,46 <sup>a</sup>	-0,58 <sup>b</sup>	1,33 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	2,21 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	2,38 <sup>a</sup>	-0,38 <sup>b</sup>	4,15 <sup>b</sup>

\* Promedio de tres repeticiones.

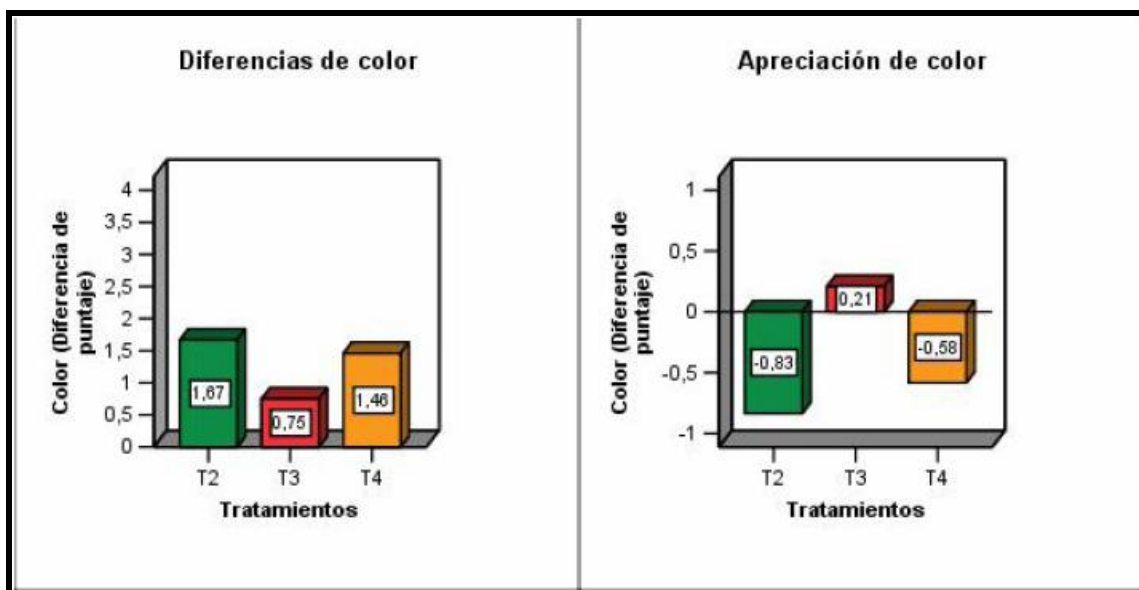
\*\* Letras distintas muestran diferencias significativas con un nivel de confianza de 95%.

(1): Diferencias con respecto al control T1; escala de evaluación de diferencias: 0 a 4; 0 = ninguna, 1 = ligera, 2 = moderada, 3 = mucha y 4 = extrema.

(2): Apreciación con respecto al control T1; escala de evaluación de apreciación: -1 a 1; -1 = inferior, 0 = igual, 1 = superior.

(3) Escala de evaluación "aceptación general": 1 a 7; 1 = me disgusta extremadamente, 2 = me disgusta mucho, 3 = me disgusta moderadamente, 4 = no me gusta ni me disgusta, 5 = me gusta moderadamente, 6 = me gusta mucho, 7 = me gusta extremadamente.

**4.6.1 Color.** “La determinación del color de los quesos, en evaluación sensorial, se refiere en primer lugar a determinar su homogeneidad o ausencia de ella en los quesos, aunque obviamente debe haber identificación del color preciso del producto” (BRITO, 1990). En la FIGURA 4, se muestra el resultado de las diferencias y apreciación del color percibidas por los panelistas entre el control T1 y el resto de los tratamientos.



**FIGURA 4 Color: diferencias y apreciación del panel frente al control T1.**

De la FIGURA 4, resalta que los tratamientos que incorporaron suero (T2 y T4) presentan diferencias de color más grandes que T3 respecto del queso Chanco control T1, encasillándose ambos en la categoría de “ligera” a “moderada” diferencia. El tratamiento T3, entra en la categoría de diferencia “ninguna” a “ligera” diferencia de color con respecto al control T1, lo que significa que no existen diferencias asociadas al efecto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina. Entre los tres tratamientos, existen diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ), asociadas a la adición de suero en polvo en T2 y T4.

Los panelistas evaluaron también si la diferencia en color mostrada por cada tratamiento en la evaluación sensorial de este atributo, era inferior, igual o superior con respecto al queso Chanco control T1, como resultado, se observó que los panelistas apreciaron negativamente la diferencia de color de T2 y T4 con respecto a T1. Con respecto a T3, se puede concluir que éste fue apreciado levemente mejor que el control T1.

Los tratamientos T2 y T4 presentan diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) con respecto a T3 en lo que respecta a la apreciación del color, vale decir, los panelistas

evaluaron mejor el tratamiento que no contuvo suero. Este comportamiento tiene relación con que los quesos con suero, al resultar más ácidos presentaron un color más pálido que el control T1 y el tratamiento T3.

BRITO (1990), comenta que maduraciones anormales producidas por una inadecuada acción del cultivo láctico durante la fermentación, dan origen a coloraciones inadecuadas, que por lo general son blanquecinas y que se presentan como manchas, motas o vetas. La fermentación inadecuada en el caso de este estudio no tiene relación con las características propias del cultivo mixto, sino que éste se desarrolló más de lo normal para un queso Chanco, dada las mejores condiciones de humedad y sustrato que ofrecieron los tratamientos T2 y T4 principalmente durante la etapa de maduración.

La asociación entre el color de los quesos y el pH tiene relación en que cuando el suero es atrapado en la cuajada, la lactosa es fermentada formando áreas focalizadas de decoloración, las cuales disminuyen a medida que avanza la maduración y sube el pH del queso (Powell et al., citados por FOX et al., 2003). Como en T2 y T4 el pH no subió debido a la prolongación de la glicólisis en maduración, no se desarrolló normalmente el color típico del queso Chanco.

**4.6.2 Aroma.** El aroma de un queso, es la consecuencia de los procesos glicólicos, proteolíticos y lipolíticos producidos durante su maduración por la acción de cultivos lácticos agregados (BRITO, 1993). La FIGURA 5 refleja las diferencias y apreciaciones estimadas por los panelistas para el atributo “aroma”.

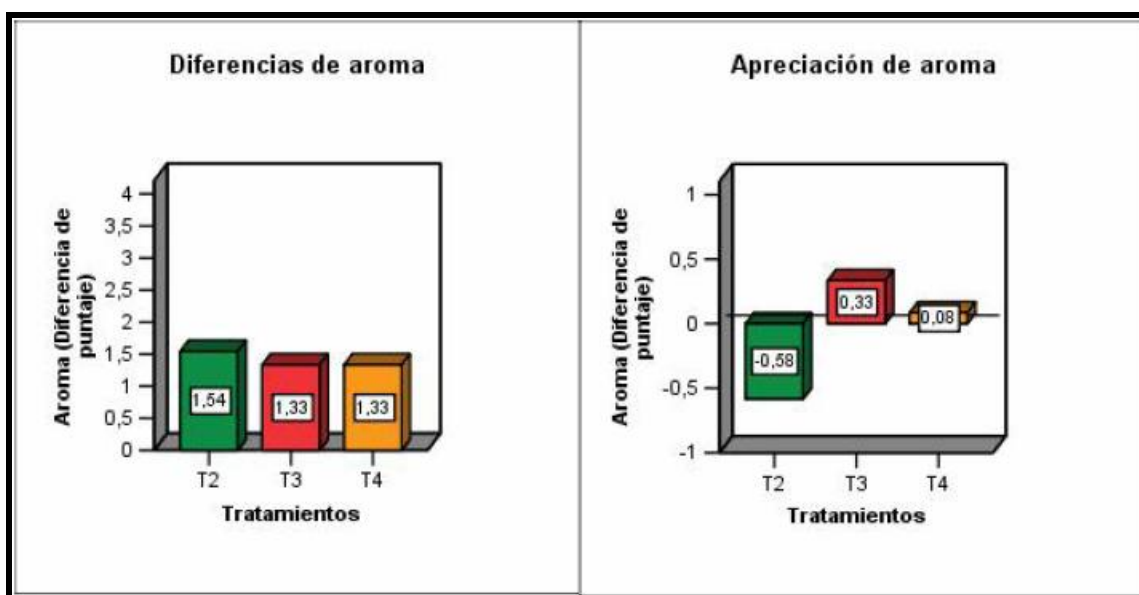


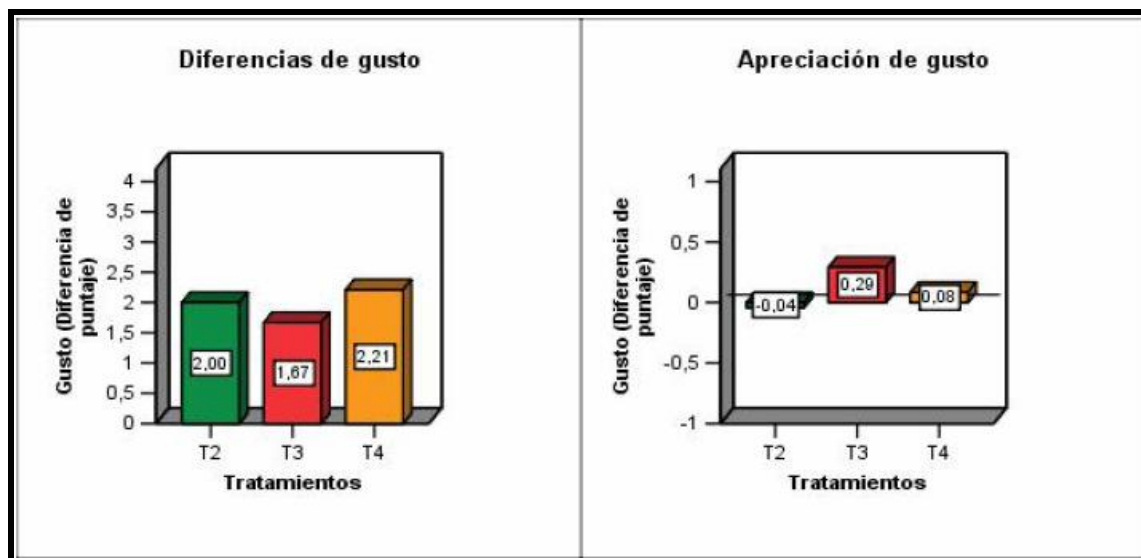
FIGURA 5 Aroma: diferencias y apreciación del panel frente al control T1.

La FIGURA 5 muestra que la diferencia en el aroma entre los tres tratamientos en relación a T1 es muy similar, no existiendo diferencias significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ). Los tres tratamientos se enmarcan en la categoría de “ligera” diferencia en aroma con respecto a T1. Se puede asumir que tanto las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina influyeron en igual medida que el suero en polvo sobre los panelistas a la hora de diferenciar el aroma de los tratamientos T2, T3 y T4 frente al control T1.

Para determinar si la diferencia observada es positiva o negativa con respecto al control T1, se analizó la apreciación de los panelistas para el atributo aroma. Al respecto, se ve en la FIGURA 5 que los tratamientos se encuentran muy cercanos a la apreciación del aroma de T1, ya que con un nivel de confianza del 95% ( $p$ -valor  $> 0,05$ ), no se observan diferencias significativas entre los tres tratamientos.

En consecuencia, el cultivo adjunto no mejoró el aroma, lo que coincide con lo expuesto por TUNGJAROENCHAI *et al.* (2004), quienes afirman que la adición de cultivo adjunto mejora el aroma en quesos Cheddar y Edam, pero en quesos de corta maduración, no se desarrolla un mejor perfil de ácidos grasos volátiles responsables del aroma. Del mismo modo, las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina no mostraron una influencia sobre este atributo, consistente con lo encontrado por VERDIER *et al.* (2000), quienes no encontraron diferencias significativas entre quesos elaborados con leches de distintas variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína, lo que se puede atribuir a que las variantes genéticas no influyen en la naturaleza de la grasa, precursor del aroma en quesos, pero sí en la proporción en que se encuentra en la leche.

**4.6.3 Gusto.** La FIGURA 6 muestra la diferenciación y apreciación estimada por los panelistas para el atributo “gusto” de los tres tratamientos evaluados frente a T1.



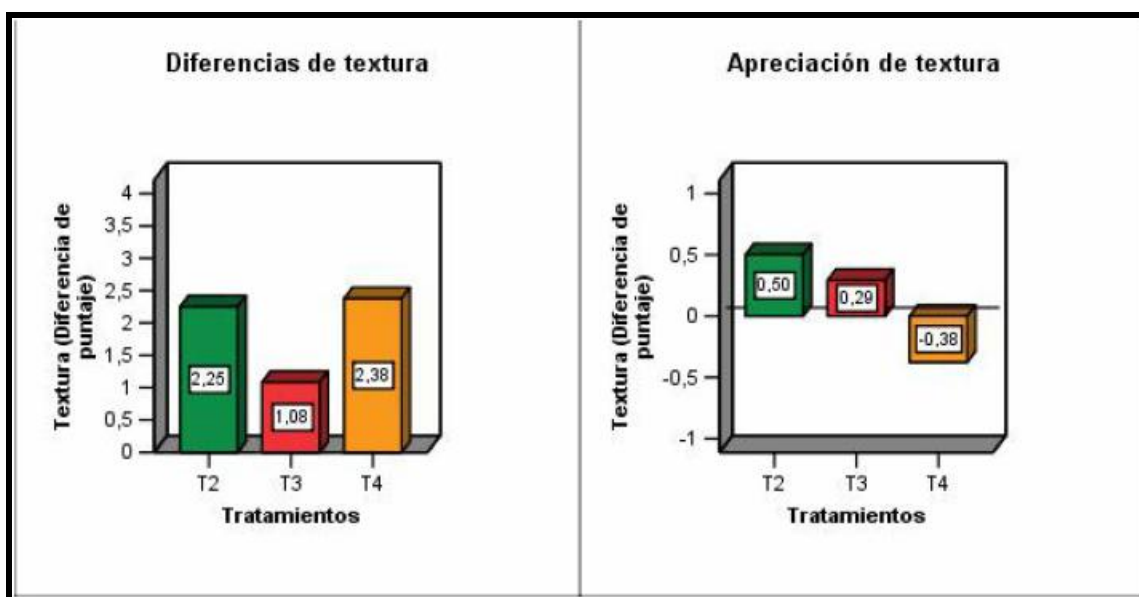
**FIGURA 6** Gusto: diferencias y apreciación del panel frente al control T1.

En la FIGURA 6, se ve que los panelistas encontraron en los tratamientos diferencias muy similares entre sí con respecto al control T1, encasillándose en la categoría de diferencia “moderada” y más. No existen diferencias significativas ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) entre los tres tratamientos. Las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina no presentan un efecto marcado sobre el gusto, tal como lo señalara anteriormente VERDIER *et al.* (2000). Se observa también que la apreciación del gusto de los tres tratamientos con respecto a T1 es similar en cuanto a su magnitud, pero estas son más cercanas a cero que a los extremos de apreciación positivo o negativo, lo que no permite establecer relaciones entre el gusto y los factores estudiados.

Referente a los comentarios emitidos por los panelistas, éstos consideraron que los quesos eran muy salados, situación que no tiene relación con los factores estudiados sino con el proceso de salado mixto del queso, el cual está influenciado por variables como la temperatura de la cámara de salado y el tiempo de residencia en la salmuera.

Muchos panelistas, encontraron T2 y T4 ácidos, y con aromas indeseables. La adición de suero y la consecuente producción incrementada de ácido láctico es la causa de este defecto. Algunos panelistas, encontraron T1 un poco desabrido, BANKS (2004), afirma que la grasa en el queso es el componente aportador de aromas y sabores, luego, si disminuye la grasa en el queso, se perjudica la calidad de estos atributos si no se compensa con el manejo de alguna variante tecnológica de proceso u otros.

**4.6.4 Textura.** La evaluación de las diferencias y apreciación de la textura de los tratamientos T2, T3 y T4 frente al control T1, se observa gráficamente en la FIGURA 7.



**FIGURA 7** Textura: diferencias y apreciación del panel frente al control T1.

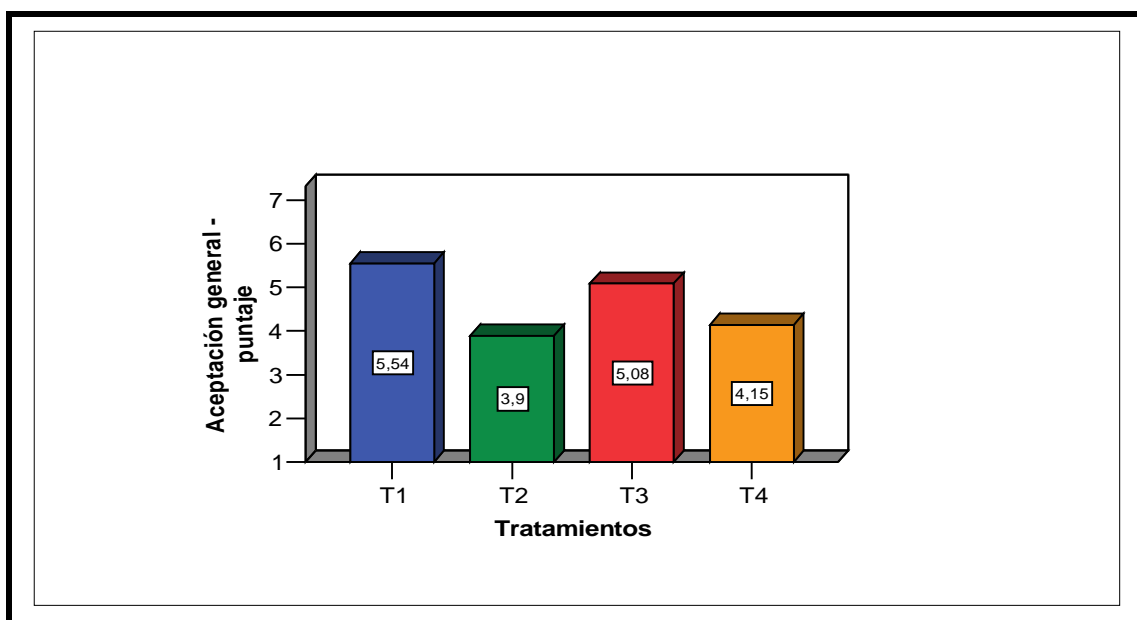
Las diferencias en textura evaluada por los panelistas, manifiestan que existen diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) entre T2 y T4 con respecto a T3.

En relación a los comentarios emitidos por los panelistas, algunos estimaron que los tratamientos T2 y T4 presentaban una masa “arenosa”, este hecho tiene relación con que estos tratamientos tienen menores valores de pH y por ende, tienen mayor cantidad de ácido en su masa interna, lo que produce una desmineralización de la cuajada, liberándose el calcio que sirve de puente entre las caseínas y favoreciéndose las interacciones caseína – agua (McMAHON *et al.*, 2005).

El mismo autor afirma que el calcio divalente neutraliza las zonas negativas de las caseínas, lo que lleva a disminuir la repulsión entre las caseínas y la expulsión de agua. En lo referente a la influencia de las variantes genéticas sobre este atributo, VERDIER *et al.* (2000), encontraron que no existen diferencias significativas entre quesos con diversas variables de  $\beta$ -lactoglobulina y  $\kappa$ -caseína.

La disminución del contenido graso de los quesos, fue detectada por algunos panelistas, encontrándolos mas “duros”, especialmente T3. BANKS (2004), afirma que la reducción del contenido graso endurece la matriz caseínica al formarse enlaces más fuertes entre las caseínas.

**4.6.5 Aceptación general.** La prueba de aceptación general realizada a los cuatro tratamientos se muestra en la FIGURA 8.



**FIGURA 8** Aceptación general de los quesos a los 28 días de maduración.

La gráfica anterior y el análisis estadístico realizado para esta variable respuesta, demuestran que al 95% de confianza, existen diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro tratamientos ( $p$ -valor  $< 0,05$ ).

Se observan claramente dos grupos, uno que consiste en los dos tratamientos que incorporaron suero en su elaboración (T2 y T4), y el otro a los quesos de los tratamientos T1 y T3, sin embargo, la validez de esta aseveración queda limitada, al no existir concordancia de criterios entre los panelistas.

El exceso de acidez es la principal causa de la diferencia entre los grupos T1–T3 y T2–T4, pues se afecta negativamente el gusto, y, al producir el desgranado de la cuajada, daña la textura de los quesos.



## 5. CONCLUSIONES

Acorde a los objetivos planteados en este estudio, las conclusiones son las siguientes:

Las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina de las leches destinadas a los tratamientos y la adición de suero en polvo, en una proporción de 3% m/m no influyeron significativamente en el tiempo de coagulación de las leches con las cuales se elaboró el queso Chanco de reducida grasa.

Durante el proceso de fermentación, en la elaboración de queso Chanco de reducida grasa, T2 y T4 (tratamientos con suero), registraron valores de acidez más altos que T1 y T3, sin embargo, esto está asociado sólo al mayor contenido de sólidos de la leche y no a un aumento en la actividad glicolítica del cultivo como consecuencia del mayor sustrato disponible. No se apreciaron diferencias significativas debido a la influencia de las variantes genéticas de las proteínas que fueron objeto de este estudio.

Al final de la maduración, el pH de los quesos resultó más bajo en T2 y T4, como resultado de la acidificación de estos quesos que se prolonga más allá de las 24 horas de elaboración. Este fenómeno tiene su causa en las condiciones favorables de humedad y mayor nivel de lactosa que permitieron continuar la actividad glicolítica en la maduración del queso Chanco reducido en grasa.

Las características físicas y químicas del producto terminado no difirieron significativamente en ningún atributo. La humedad, el extracto seco, la materia grasa, materia grasa en base seca y la humedad en queso desgrasado no arrojó diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, por lo tanto, no se observan diferencias asociadas a las variantes genéticas de las proteínas estudiadas ni a la incorporación de suero en polvo.

El rendimiento experimental de los quesos que incorporaron suero (T2 y T4) fue significativamente superior al control T1, dado la mayor presencia de sólidos. Al inicio y al final de la maduración no se observan diferencias estadísticamente significativas asociadas a las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, sin embargo, T3 numéricamente presenta rendimientos más altos que T1 al final de la maduración, igual que T4 con respecto a T2.

Organolépticamente, existieron diferencias significativas en los atributos de color y textura respecto del grado de diferencia frente al control T1, observándose la mayor magnitud de diferencias en los quesos que incorporaron suero. La apreciación de las

diferencias encontradas por los panelistas fueron significativas para los atributos de color, aroma y textura. No se encuentra una asociación de las variantes genéticas con la calidad sensorial de los quesos ni tampoco un rol preponderante en estos atributos de parte del cultivo adjunto de *Lactobacillus helveticus*.

La aceptación general de los tratamientos fue superior para T1 y T3, con promedios de 5,54 y 5,08 respectivamente, en una escala de 1 a 7, donde los valores cercanos a cinco se encasillan en la categoría “me gusta moderadamente”. Los tratamientos T2 y T4 obtuvieron calificaciones de 3,90 y 4,15 respectivamente, acercándose a la categoría “no me gusta ni me disgusta”. Sin embargo, este análisis resulta poco confiable al no existir concordancia en el criterio de evaluación de los panelistas.

## 6. RESUMEN

### **INFLUENCIA DE LAS VARIANTES GENÉTICAS DE $\kappa$ -CASEÍNA y $\beta$ -LACTOGLOBULINA y LA ADICIÓN DE SUERO EN POLVO SOBRE EL PROCESAMIENTO DE QUESO CHANCO DE REDUCIDA GRASA.**

El estudio consistió en evaluar el efecto de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina y la adición de suero en polvo (3% m/m) sobre el procesamiento, rendimiento, producto terminado y características organolépticas de un queso Chanco de reducida grasa. Los tratamientos fueron: control (T1): queso Chanco reducido en grasa; T2: queso Chanco reducido en grasa con suero en polvo y cultivo adjunto *Lactobacillus helveticus*; T3: queso Chanco reducido en grasa elaborado con leche con predominio de variante B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, con cultivo adjunto *Lactobacillus helveticus*; T4: queso Chanco reducido en grasa elaborado con predominio de variante B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, con suero en polvo y cultivo adjunto *Lactobacillus helveticus*. El predominio de la variante B de las proteínas estudiadas (T3 y T4) no influyó en el tiempo de coagulación de la leche ni en el proceso de fermentación. La adición de suero en polvo (T2 y T4) favoreció el incremento de acidez durante la elaboración sólo por el aumento de sólidos en la leche y durante la maduración de estos quesos, siguió disminuyendo el pH, dado que continuó la producción de ácido láctico. El rendimiento experimental del queso Chanco reducido en grasa aumentó significativamente ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) por la adición de suero en polvo en T2 y T4, no así por la expresión predominante de la variante genética B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina. Las cualidades sensoriales del queso Chanco reducido en grasa se vieron afectadas por la adición de suero en polvo, ya que su bajo pH influyó en su textura y color. Ni las leches con predominio de la variante genética B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, ni el cultivo adjunto adicionado influyeron consistentemente en los atributos sensoriales de los quesos elaborados, con respecto al control T1.

**Palabras claves:** queso Chanco reducido en grasa, variantes genéticas  $\kappa$ -CN y  $\beta$ -LG, suero en polvo.

## SUMMARY

### **INFLUENCE OF GENETIC VARIANTS OF $\kappa$ -CASEIN AND $\beta$ -LACTOGLOBULIN AND THE ADDITION OF WHEY POWDER ON PROCESSING OF REDUCED-FAT CHANCO CHEESE.**

Influence of genetic variants of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin and whey powder (3% m/m) on processing, cheese yield and chemical, physical and sensory properties of reduced-fat Chanco cheese was studied. Treatments responses to: T1: (control), reduced-fat Chanco cheese; T2: reduced-fat Chanco cheese in addition of whey powder and adjunct culture *Lactobacillus helveticus*; T3: reduced-fat Chanco cheese manufactured with milk predominance of genetic variant B of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin, in addition of adjunct culture *Lactobacillus helveticus*; T4: reduced-fat Chanco cheese manufactured with milk predominance of genetic variant B of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin, whey powder and adjunct culture *Lactobacillus helveticus*. Predominance of genetic variant B of protein studied did not affect milk coagulation time, neither fermentation process during manufacture of reduced-fat Chanco cheese. Whey powder increase Writable acidity during manufacture only by increase of solid content in milk. Maturation of reduced-fat Chanco cheese manufactured with whey powder resulted in a low pH, due to production of lactic acid during this stage. Cheese yield increased significantly (p-value < 0,05) in T2 and T4, respect to T1 and T3, due to addition of powdered whey, not by predominance of variant B of protein studied in milk. Sensory properties of reduced-fat Chanco cheese was affected by the addition of whey powder, in color and texture attributes. Genetic variants of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin in milk did not affect sensory properties of reduced-fat Chanco cheese. Improvement of sensory characteristics of reduced-fat Chanco cheese by addition of Adjunct culture *Lactobacillus helveticus* wasn't consistently.

**Keywords:** reduced-fat Chanco cheese, genetic variants of  $\kappa$ -CN and  $\beta$ -LG, whey powder.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- ALAIS, C. 1985. Ciencia de la Leche; Principios de Técnica Lechera. 2ª ed. Barcelona, España. Reverté. 873 p.
- ALEANDRI, R.; BUTTAZZONI, L. y SCHNEIDER, J. 1990. The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese producing ability. *Journal of Dairy Science*. 73:241–255.
- AMIOT, J. 1991. Ciencia y Tecnología de la Leche. Zaragoza, España. Acribia. 547 p.
- ANGULO, C. 2005. Factibilidad de producción y estudio de rendimiento de queso Chanco con incorporación de suero en polvo. Tesis M. Sc. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 153 p.
- ARTEAGA, M. 2004. Evolución de la maduración de queso Chanco con adición de suero en polvo. Tesis M. Sc. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 236 p.
- BANKS, J. 2004. The technology of low-fat cheese manufacture. *International Journal of Dairy Technology*. 57 (4): 199–207.
- BANKS, J. y WILLIAMS, A. 2004. The role of the nonstarter lactic acid bacteria in Cheddar cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2/3): 145–152.
- BANKS, J.; MUIR, D. y TAMIME, A. 1984. Equations for estimation of the efficiency of Cheddar cheese production. *Dairy Industries International*. 49 (4): 14-17.
- BELITZ, H. y GROSCH, W. 1997. Química de los Alimentos. 2ª ed. Zaragoza, España. Acribia. 1087 p.
- BENAVIDES, T. 2003. Efecto de las variantes genéticas A y B de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina sobre las propiedades de coagulación de la leche. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 108 p.
- BOWERS, J. 1992. Food Theory and Applications. 2ª ed. Ontario, Canadá. Maxwell Macmillan. 777 p.
- BOCK, S. 1999. Atenuación de *Lactobacillus helveticus* y estudio de sus propiedades de glicólisis, proteólisis y lipólisis en leche. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 112 p.
- BRITO, C.; NIKLITSCHKEK, L.; MOLINA, L. y MOLINA, I. 2002 a. Evaluation of mathematical equations to predict the theoretical yield of chilean Gouda cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 55 (1): 32–39.
- BRITO, C.; MENDEZ, P.; MOLINA, L. y PINTO, M. 2002 b. Desarrollo de queso Chanco de reducido tenor graso utilizando proceso de homogenización en la leche. *Agrosur*. 30 (1): 68–79.

- BRITO, C. 1999. Guía de práctico queso Chanco. Curso de tecnología de productos lácteos, ITCL 272. Universidad Austral de Chile. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Valdivia. Chile. 6 p.
- BRITO, C. y ASTETE, M. 1997. Queso tipo Maribo elaborado con leche concentrada. II. Rendimiento. Alimentos. 22 (1-2): 17-29.
- BRITO, C.; MORALES, O.; PINTO, M.; MOLINA, L. y PESSOT, R. 1996. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo campo almacenada a altas temperaturas. Parte II. Proteólisis. Agrosur. 24 (1): 1-13.
- BRITO, C.; MORALES, O.; MOLINA, L.; PESSOT, R y PINTO, M. 1995. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo campo almacenada a altas temperaturas. Parte I. Parámetros fisicoquímicos y pérdida de peso. Agrosur. 23 (2): 95-106.
- BRITO, C. 1993. Aspectos bioquímicos de la maduración de quesos. Alimentos. 18 (4): 40-55.
- BRITO, C. 1990. Cultivos Lácticos; Su influencia sobre la calidad físico-organoléptica de los quesos. Alimentos. 15 (3): 61-65.
- BUCHBERGUER, J. y DOVC, P. 2000. Lactoprotein genetic variants in cattle and cheese making ability. Food Technology and Biotechnology. 38(2): 91-98.
- CASANOVA, M. 2001. Identificación de las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína en leche de vacas Holstein Friesian y Jersey por electroforesis de isoenfoque. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 102 p.
- CELIK, S. 2004. The associations of  $\beta$ -Lg genetic variants with the yields and composition of Turkish White cheese. Milchwissenschaft. 59 (1-2): 32-34.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1999. Productos Lácteos; Queso Chanco: Requisitos. Norma Chilena 2090. Of. 1999.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1998 a. Leche Cruda; Determinación de células somáticas-Método A: Método microscópico de referencia. Norma Chilena 1746. Of 1998.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1998 b. Leche; Determinación del contenido de materia grasa. Método Gerber. Parte 1: Procedimiento. Norma Chilena 1016/1. Of. 1998.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1998 c. Leche; Determinación de la acidez titulable. Norma Chilena 1738. Of. 1998.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1979 a. Leche; Determinación de densidad. Norma Chilena 1672. Of. 1979.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1979 b. Leche y productos lácteos; Determinación del pH. Norma Chilena 1671. Of. 1979.
- CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS, ODEPA. 2006. Boletín de la Leche Año 2005. Santiago. Chile. 56 p.

- CHILE, MINISTERIO DE SALUD. 2004. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Departamento de asesoría jurídica. Santiago. Chile. 247 p.
- CID, C. 2004. Proteína total, calcio, fósforo y estabilidad térmica de la leche y su relación con las variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína. Época de invierno. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 101 p.
- COULON, J. 2004. Qualità del latte e produzione casearia: L' effetto della genetica e dell alimentazione sulle proprietà coagulanti del latte e sulle caratteristiche sensoriali del formaggio. 7ª Confereza Mondiale Alevatori Razza Bruna. 55–66.
- ECK, A. 1990. El Queso. Barcelona, España. Omega. 490 p.
- EMMONS, D.; DUBE, C. y MODLER, H. 2003. Transfer of protein of milk to cheese. *Journal of Dairy Science*. 86 (2): 469–485.
- ESNAOLA, V. 2005. Situación del mercado del queso en Chile. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, ODEPA. Santiago. Chile. 20 p.
- FARKYE, N. 2004. Cheese Technology. *International Journal of Dairy Technology*. 57 (2/3): 91–98.
- FENELON, M.; BERESFORD, T. y GUINEE, T. 2002. Comparison of different bacterial culture systems for the production of reduced-fat Cheddar cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 55 (4): 194–203.
- FENELON, M. y GUINEE, T. 1997. The compositional, textural and maturation characteristics of reduced-fat Cheddar made from milk containing added Dairy Lo™. *Milchwissenschaft*. 52(7). 385–389.
- FENNEMA, O. 2000. Química de los Alimentos. 2ª ed. Zaragoza, España. Acribia. 1258 p.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION, FAO. 1999. Norma general del Codex para el uso de términos lecheros. CODEX STAN 206–1999. 3 p.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION, FAO. 1986. Manual correspondiente al módulo III–B. Elaboración de quesos. Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería para América Latina. Santiago. Chile. 132 p.
- FOX, P.; ROGINSKI, H. y FUQUAY, J. 2003. *Encyclopedia of Dairy Science*. Volume One–Part II. London, U.K. Academic Press. 252–557.
- FOX, P. 1982. *Developments in Dairy Chemistry; Proteins*. London. Elsevier. 409 p.
- FREIFELDER, D. 1982. *Physical Biochemistry*. 2ª ed. New York. W.H. Freeman. 751 p.
- GARDNER, E. y SNUSTAD, P. 1984. *Principles of Genetics*. New York. John Wiley & Sons. 648 p.
- HAZARD, S. 2005. Calidad de Leche. INIA Carillanca. 8 p.
- HILL, J. 1993. The relationship between  $\beta$ -lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 76: 281–286.

- IKONEN, T.; MORRI, S.; TYRISEVÄ, A.; RUOTTINEN, O. y OJALA, M. 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulations properties, milk production traits, somatic cell count, casein content and pH of milk. *Journal of Dairy Science*. 87 (2): 458–467.
- INDA, A. 2000. *El Queso*. Organización de los Estados Americanos, OEA. Washington. 170 p.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF/FIL. 2000. *Practical guide for control of cheese yield*. Brussels. Belgium. 114 p.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, IDF/FIL. 1993. *Cheese yield and factors affecting its control*. Proceedings of the IDF Seminar Held in Cork. Ireland. 540 p.
- JOHNSON, J.; ETZEL, M.; CHEN, C. y JOHNSON, M. 1995. Accelerated ripening of reduced-fat Cheddar cheese using four attenuated *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 adjuncts. *Journal of Dairy Science*. 78 (4): 769-776.
- KAHYAOGLU, T.; KAYA, S. y KAYA, A. 2005. Effects of fat reduction and curd dipping temperature on viscoelasticity, texture and appearance of Gaziantep cheese. *Food Science and Technology International*. 11 (3): 191–198.
- LETÉLIER, A. 1998. *Composición de la leche cruda de la VIII, IX y X regiones*. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 77 p.
- LO, C. y BASTIAN, E. 1998. Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd for manufacture of reduced fat, Havarti-type cheese. *Journal of Dairy Science*. 81 (1): 16–24.
- LOBATO, C.; AGUIRRE, E. y VERNON, E. 1999. Propiedades reológicas de análogos de queso: Efectos de sustitutos de grasa, grasa y humedad. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2(3): 119–124.
- MADKOR, S.; TONG, P y EL SODA, M. 2000. Ripening of Cheddar cheese with added attenuated adjunct cultures of *Lactobacilli*. *Journal of Dairy Science*. 83: 1684–1691.
- MADRID, A. 1990. *Manual de Tecnología Quesera*. Madrid, España. AMV ediciones. 336 p.
- MAYER, H.; ORTNER, M.; TSCHAGER, E. y GINZINGER, W. 1997. Composite milk protein phenotypes in relation to composition and cheesemaking properties of milk. *International Dairy Journal*. 7: 305–310.
- MAZZA, G. 2000. *Alimentos Funcionales; Aspectos Bioquímicos y de Procesado*. Zaragoza, España. Acribia. 457 p.
- MENZ, M. 2002. *Estudio del rendimiento quesero teórico a través de ecuaciones predictivas y su correlación con el rendimiento práctico en queso Chanco industrial*. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 163 p.

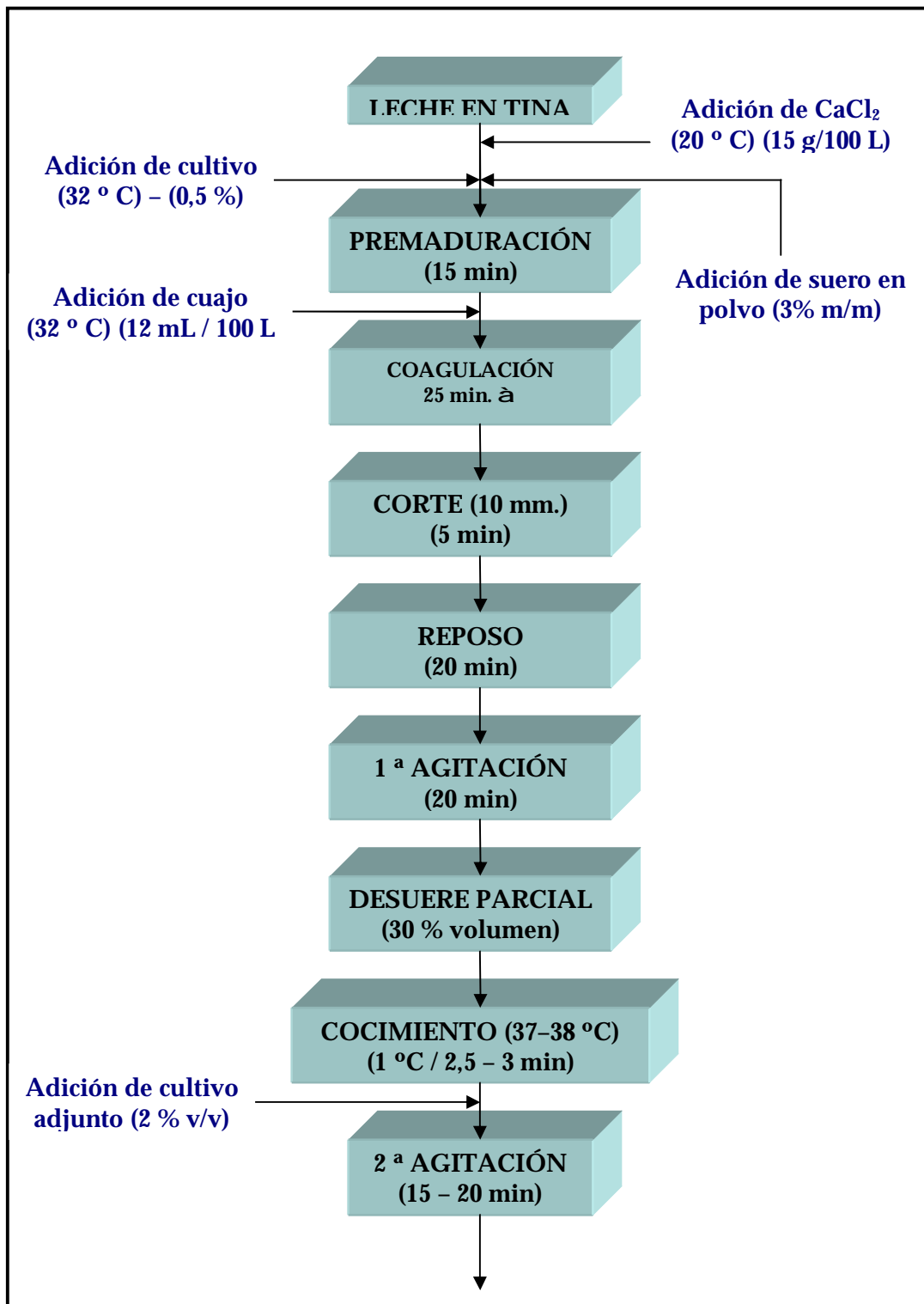


- McMAHON, D.; PAULSON, B. y OBERG, C. 2005. Influence of calcium, pH, and moisture on protein matrix structure and functionality in direct-acidified nonfat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*. 88 (11): 3754–3763.
- MOLINA, L.; CASANOVA, M.; GONZALEZ, L.; PINTO, M.; CARRASCO, E. y BRITO, C. 2003. Identification of the genetic variants of  $\kappa$ -casein in milk by isoelectric focusing electrophoresis. *Internacional Journal of Dairy Technology*. 56 (4): 211–218.
- NG-KWAI-HANG, K.; OTTER, D.; LOWE, E.; BOLAND, M. y AULDIST, M. 2002. Influence of genetic variants of  $\beta$ -lactoglobulin on milk composition and size of casein micelles. *Milchwissenschaft*. 57(6): 303–306.
- PINTO, M.; VEGA, S. y PÉREZ, N. 1998. Métodos de análisis de la leche y derivados; Garantía de calidad. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. 491 p.
- PLAYNE, M.; BENNETT, L. y SMITHERS, G. 2003. Functional dairy foods and ingredients. *The Australian Journal of Dairy Technology*. 58 (3): 242–264.
- PUNIDADAS, P.; FEIRTAG, J. y TUNG, M. 1999. Incorporating whey proteins into Mozzarella cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 52(2): 51–58.
- REKAS, M. 2004. Exportaciones chilenas y resultados del TLC entre Chile y Estados Unidos entre enero y septiembre 2004. Santiago, Chile. AMCHAM CHILE. 16 p.
- ROMERO, V. 2005. Producción de queso Chanco reducido en grasa con adición de suero en polvo y cultivos adjuntos atenuados; Estudio de procesamiento. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 123 p.
- RUDAN, M.; BARBANO, D.; YUN, J. y KINDSTEDT, P. 1999. Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*. 82: 661–672.
- SALAZAR, S. 2005. Maduración de queso Chanco de reducido contenido grasa, con adición de suero en polvo y cultivo adjunto atenuado. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 139 p.
- SCOTT, R. 1991. Fabricación de Queso. Zaragoza, España. Acribia. 520 p.
- SMYTH, E.; CLEGG, R. y HOLT, C. 2004. A biological perspective on the structure and function of casein and casein micelles. *International Journal of Dairy Technology*. 57 (2/3): 121–126.
- STEFFL, A.; HAFENMAIR, M.; HECHLER, A. y HINRICHS, J. 1999. Influence of whey protein particles on the renneting properties of milk. *Milchwissenschaft*. 54 (9): 510–513.
- TORNADIJO, M.; MARRA, A.; GARCÍA FONTÁN, M.; PRIETO, B. y CARBALLO, J. 1998. La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso; Calidad química. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2 (2): 79–91.
- TSIARAS, A.; BARGOULI, G.; BANOS, G. y BOSCO, C. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 88 (1): 327–334.

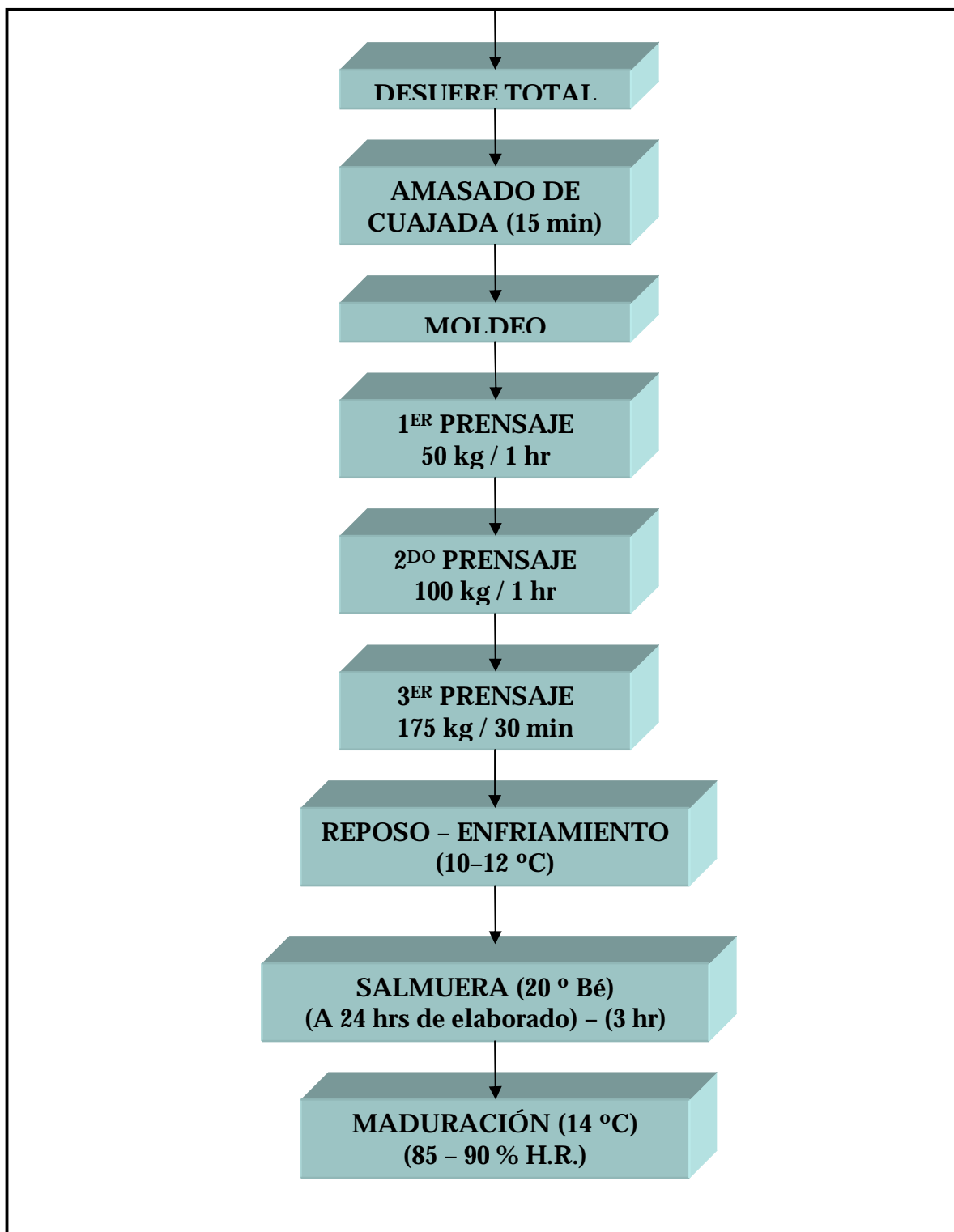
- TUNGJAROENCHAI, W.; WHITE, C.; HOLMES, W. y DRAKE, M. 2004. Influence of adjunct cultures on volatile free fatty acids in reduced-fat Edam cheeses. *Journal of Dairy Science*. 87 (10): 3224–3234.
- VEGA, L. 2002. Influencia del uso de imitadores de grasa sobre el proceso de elaboración y rendimiento de queso Chanco de reducido tenor graso. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 206 p.
- VERA, C. 2000. Contenido de sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo no proteico y fósforo total en leche de la VIII, IX y X regiones. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 88 p.
- VERDIER, I.; COULON, J.; PRADEL, P.; VIALON, C.; ALBOUY, H. y BERDAGUÉ, J. 2000. Effect of the botanical composition of hay and casein genetic variants on the chemical and sensory characteristics of ripened Saint-Nectaire type cheeses. *Lait*. 80: 361–370.
- WALSH, C.; GUINEE, T.; HARRINGTON, D.; MEHRA, R.; MURPHY, J.; CONNOLLY, J. y FITZGERALD, R. 1998 a. Cheesemaking, compositional and functional characteristics of low-moisture part-skim Mozzarella cheese from bovine milks containing  $\kappa$ -casein AA, AB or BB genetic variants. *Journal of Dairy Research*. 65: 307–315.
- WALSH, C.; GUINEE, T.; REVILLE, W.; HARRINGTON, D.; MURPHY, J.; O'KENNEDY, B. y FITZGERALD, R. 1998 b. Influence of  $\kappa$ -casein genetic variant on rennet gel microstructure, Cheddar cheesemaking properties and casein micelle size. *International Dairy Journal*. 8(1998): 707–714.
- WALSH, C.; GUINEE, T.; HARRINGTON, D.; MEHRA, R.; MURPHY, J.; CONNOLLY, J. y FITZGERALD, R. 1995. Cheddar cheesemaking and rennet coagulation characteristics of bovine milks containing  $\kappa$ -casein AA or BB genetic variants. *Milchwissenschaft*. 50(9): 492–495.
- WALSTRA, P.; GEURTS, P.; NOOMEN, T.; JELLEMA, A. y van BOEKEL, M. 1999. *Dairy Technology; Principles of milk properties and processes*. New York. Marcel Dekker. 727 p.
- WALSTRA, P. y JENNES, R. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. New York. John Wiley & Sons. 467 p.
- WEINRICHTER, B.; GINZINGER, W.; SOLLBERGER, H. y ROHM, H. 2004. Production of Emmental cheese with adjunct starters with varying degree of autolysis. *Milchwissenschaft*. 59 (9/10): 515–519.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1. Protocolo de elaboración de queso Chanco.



(Continuación ANEXO 1).



FUENTE: BRITO (1999), con las modificaciones necesarias para cada tratamiento.

## ANEXO 2. Protocolo de preparación de suero en polvo.

### DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE SUERO EN POLVO

Para obtener una relación homogénea entre el contenido de materia grasa y el contenido de sólidos no grasos, se debe estandarizar el contenido de materia grasa acorde a la incorporación de sólidos como el suero, el cálculo se realiza como sigue:

% de M.G. en leche para elaborar queso Chanco:	1,6 %
% promedio de sólidos no grasos en leches chilenas:	8,3 %

Razón % M.G./SNG = 0,192, esta razón, una vez agregado el suero a la leche debe mantenerse. El contenido de suero en kg se estima como sigue:

- Determinar el volumen de leche que se adicionará a tina
- Determinar la densidad de la leche
- Obtener mediante la siguiente expresión  $d = \frac{m}{v}$  los kilogramos de leche a procesar
- Del total de kilogramos de leche, obtener el 3% del peso del mismo, este corresponderá al peso de suero a agregar en tina
- Dividir los kilogramos de suero obtenidos por 0,96, considerando que éste suero posee una concentración de sólidos del 96% y 4% de agua
- El valor obtenido corresponderá al total de kilogramos de suero a reconstituir al 50 % p/p

### PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE SUERO EN POLVO

- Calentar a 45 °C un volumen de agua suficiente para reconstituir el suero en polvo a un nivel del 50%
- Disolver el suero correspondiente al 3% m/m del peso de la leche
- Llevar la mezcla a 70 °C en un máximo de 20 minutos
- Mantener la mezcla a 70 °C por 10 minutos
- Enfriar rápidamente la mezcla a 25 °C y refrigerar hasta el día de la elaboración

FUENTE: ANGULO (2005).

### ANEXO 3. Protocolo de preparación de cultivo adjunto.

- Reconstituir leche al 10% de sólidos totales con leche descremada en polvo, libre de inhibidores
- Tindalizar la leche a 85 °C por 30 minutos, por tres días consecutivos
- Inocular una asada de cultivo congelado de *Lactobacillus helveticus* CNRZ – 32 a un tubo de ensayo con 10 mL de la leche tindalizada e incubar por 24 horas a 37 °C
- Replicar al 2 % en un tubo de 10 mL (0,2 mL) e incubar por 24 horas a 37 °C. Realizar este paso tres veces
- Inocular al 2 % (96 mL) en 4,8 L de leche tratada a 85 °C por 30 minutos. Se incuba a 37 °C por 14,5 horas (Cálculo estimado para 240 L de leche en tina)
- Retirar los cultivos de baño termostático a 37 °C y dejar en ambiente por no más de dos horas antes de la atenuación
- Para la atenuación del cultivo, llevar los 4,8 L de cultivo adjunto a 68 °C en un máximo de 5 minutos, se mantiene a esa temperatura por 18 segundos (en fermentador con agua a ebullición) y se enfría rápidamente hasta 25 °C en banco de hielo
- Llevar a cámara de refrigeración si no se utiliza de inmediato; en estas condiciones el cultivo puede estar máximo una semana.

FUENTE: Modificado de BOCK (1999).

### ANEXO 4. Planilla de control de proceso de elaboración de queso Chanco.

Planilla de Control de Proceso de Elaboración de Queso Chanco	
<b>Fecha:</b> <b>Tina nº</b>	
Materias primas e Insumos	
Leche tipo:	
Vol. de leche:	
Densidad de leche	
Peso de leche:	
% M.G. leche entera:	
% M.G. leche estd:	
Vol. C. Mixto:	
Acidez C. Mixto:	
Vol. Y tpo inc C. Adj:	
Acidez C. Adj:	
Peso CaCl <sub>2</sub> :	
Peso sal:	
Vol. de cuajo:	
Peso de cloro:	
Peso de suero:	
Tratamiento de la cuajada	
Hora de corte:	
Hora inicio reposo:	
Hora fin reposo:	
Hora y Tº inicio 1ª agit:	
Hora y Tº fin 1ª agit:	
Acidez suero 1ª agit:	
Hora y Tº des. parcial:	
Acidez desuere parcial	
Hora inicio cocimiento	
Hora y Tº fin cocimiento	
Acidez fin cocimiento	
Hora y Tº Cult. Adjunto	
Acidez post C. Adj.	
Hora y Tº inicio 2ª agit	
Hora y Tº fin 2ª agit:	
Acidez desuere total	
Hora adición salmuera:	
Hora inicio amasado:	
Hora inicio moldeo	
Hora inicio 1º prensaje	
Hora inicio 2º prensaje	
Hora inicio 3º prensaje	
Hora fin 3º prensaje	
pH y Tº salida prensa	
Reposo	.....
Peso y pH 24 hrs	
Entrada a salmuera	
Salida de salmuera	
Tratamiento de leche	
Hora entrada de leche a tina:	
pH leche:	
Acidez leche:	
Tº de leche:	
Hora inicio calentamiento:	
Hora y Tº adición de suero:	
Hora y Tº adición de calcio:	
Hora y Tº adición cultivo	
Acidez inicio premad:	
Hora y Tº término de premad:	
Acidez término premad:	
Hora y Tº adición de cuajo:	
Referencias / Especificaciones	
Calentamiento leche hasta 32°C	15 - 20 min.
Tº adición calcio	20 ° C
Premaduración	20 min.
Coagulación	35 - 45 min.
Reposo	20 min.
1ª agitación	20 min.
Cocimiento	20 - 25 min.
Tº cocimiento	37,5 -> 37,8
pH salida prensa	5,8 - 6



**ANEXO 5. Distancias de migración de variantes genéticas de  $\kappa$ -caseína y  $\beta$ -lactoglobulina.**

<b>Proteína</b>	<b>Muestra</b>	<b>Migración desde el ánodo (mm) St A</b>	<b>Migración desde el ánodo (mm) St B</b>	<b>Migración muestra (mm)</b>	<b>Variante genética observada</b>
$\kappa$ – CN	T1R1	26,60	37,20	24,55	A
$\kappa$ – CN	T2R1	26,60	37,20	43,08	B
$\kappa$ – CN	T3R1	26,60	37,20	43,74	B
$\kappa$ – CN	T4R1	31,78	33,39	34,18	B
$\kappa$ – CN	T1R2	25,44	28,80	30,37 – 26,05	AB
$\kappa$ – CN	T2R2	25,44	28,80	24,01	A
$\kappa$ – CN	T3R2	25,44	28,80	31,42	B
$\kappa$ – CN	T4R2	31,78	33,39	34,92	B
$\kappa$ – CN	T1R3	26,60	37,20	43,16	B
$\kappa$ – CN	T2R3	26,60	37,20	30,50 – 36,76	AB
$\kappa$ – CN	T3R3	26,60	37,20	40,05	B
$\kappa$ – CN	T4R3	25,44	28,80	25,30	A
$\beta$ – LG	T1R1	16,90	19,03	18,00	B
$\beta$ – LG	T2R1	16,90	19,03	18,00	B
$\beta$ – LG	T3R1	16,90	19,03	18,00	B
$\beta$ – LG	T4R1	16,90	19,03	18,00	B
$\beta$ – LG	T1R2	16,90	19,03	18,93	B
$\beta$ – LG	T2R2	16,90	19,03	18,48	B
$\beta$ – LG	T3R2	16,90	19,03	18,48	B
$\beta$ – LG	T4R2	16,90	19,03	18,26	BB
$\beta$ – LG	T1R3	16,90	19,03	18,11	B
$\beta$ – LG	T2R3	16,90	19,03	18,02	BB
$\beta$ – LG	T3R3	16,90	19,03	17,98	B
$\beta$ – LG	T4R3	16,90	19,03	18,00	B

## ANEXO 6. Pauta de evaluación sensorial de queso Chanco.

Prueba: comparación múltiple

Tipo: diferencias

Usted ha recibido cuatro muestras de queso Chanco a fin de compararlas en las características de color, aroma, gusto y textura. Una de estas muestras es el control y debe ser confrontada con el resto de las muestras.

1. Califique la diferencia entre el control y el resto de las muestras según la escala proporcionada a continuación:

ESCALA	PUNTAJE
Ninguna	0
Ligera	1
Moderada	2
Mucha	3
Extrema	4

2. Posteriormente indique por favor si la calidad del atributo calificado es inferior, igual o superior al control.
3. Se adjunta en esta evaluación una determinación de la aceptación general de las muestras proporcionadas.

(Continuación ANEXO 6).

**Descripción de atributos sensoriales evaluados**

**COLOR:** se debe evaluar el color de la masa interna del queso Chanco, la cual debe ser amarilla pálida y de color homogéneo (BRITO **et al.** 1996). Defectos en este atributo son presencia de manchas, decoloraciones y vetas.

**AROMA – GUSTO:** el aroma y gusto del queso Chanco debe ser suave a queso medianamente madurado, aroma puro medianamente intenso (BRITO **et al.** 1996). Defectos en estos atributos son la presencia de sabores amargos, ácidos, salado, a estiércol, levadura.

**TEXTURA:** se debe considerar la presencia o ausencia de ojos (orificios) y el tipo de éstos. En el caso del queso Chanco, éste debe presentar ojos del tamaño de un grano grande de arroz de forma irregular, distribuidos abundantemente y homogéneamente en la masa del queso (BRITO **et al.** 1996). Se considera un defecto en este atributo ojos muy pequeños, de gases (redondos de diferente tamaño), ojos distribuidos heterogéneamente o ausencia de ojos.

### ANEXO 7. Planilla de evaluación sensorial de queso Chanco.

Nombre:

Fecha:

Por favor, marque con un círculo la cifra que indica magnitud de diferencia para los atributos evaluados.

Código muestra	Atributo	Magnitud de diferencia	Apreciación respecto al control	Comentarios
	Color	0 1 2 3 4	Superior ____	
	Aroma	0 1 2 3 4	Igual ____	
	Gusto	0 1 2 3 4	Inferior ____	
	Textura	0 1 2 3 4		
	Color	0 1 2 3 4	Superior ____	
	Aroma	0 1 2 3 4	Igual ____	
	Gusto	0 1 2 3 4	Inferior ____	
	Textura	0 1 2 3 4		
	Color	0 1 2 3 4	Superior ____	
	Aroma	0 1 2 3 4	Igual ____	
	Gusto	0 1 2 3 4	Inferior ____	
	Textura	0 1 2 3 4		
	Color	0 1 2 3 4	Superior ____	
	Aroma	0 1 2 3 4	Igual ____	
	Gusto	0 1 2 3 4	Inferior ____	
	Textura	0 1 2 3 4		

Por favor marque con una cruz el casillero que muestre su preferencia para cada una de las muestras.

Escala	Muestra			
7 – Me gusta extremadamente				
6 – Me gusta mucho				
5 – Me gusta moderadamente				
4 – No me gusta ni me disgusta				
3 – Me disgusta moderadamente				
2 – Me disgusta mucho				
1 – Me disgusta extremadamente				

### ANEXO 8. Resultados de análisis fisicoquímicos realizados a la leche.

Análisis (*)	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Leche cruda</b>												
M. G. (%)	3,60	3,60	3,35	3,60	3,28	3,60	3,50	3,20	3,10	3,80	3,58	3,20
S. T. (%)	12,16	12,23	11,87	12,23	11,95	12,37	12,40	12,05	11,22	12,45	12,32	11,57
S. N. G. (%)	8,56	8,63	8,52	8,63	8,68	8,77	8,90	8,85	8,12	8,65	8,74	8,37
Células somáticas/mL	321.069	3762.18	355.029	254.101	344.667	283.675	322.301	323.178	350.647	345.286	404.752	376.843
<b>Leche estandarizada</b>												
Densidad a 20 ° C (g/mL)	1,0295	1,0280	1,0315	1,0295	1,0310	1,0295	1,0300	1,0300	1,0315	1,0295	1,0290	1,0300
pH	6,67	6,65	6,73	6,75	6,69	6,64	6,65	6,71	6,73	6,70	6,70	6,65
Acidez (°Th)	16,50	17,00	16,00	15,50	18,30	18,00	16,00	16,00	18,00	16,00	16,00	15,99
M.G. (%)	1,75	1,50	1,55	1,80	2,00	1,95	1,70	1,60	1,55	1,80	1,98	2,15
Proteína (%)	3,83	3,34	3,48	3,40	3,51	3,59	3,83	3,52	3,38	3,24	3,62	3,58

\* Análisis realizados en duplicado

**ANEXO 9. Resultados de análisis fisicoquímicos realizados durante el proceso de elaboración de queso Chanco.**

Análisis (*)	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Acidez</b>												
Cultivo mixto (°Th)	92,0	78,0	89,0	80,0	74,0	90,0	84,0	79,0	88,0	80,5	81,0	90,0
Cultivo adjunto (°Th)				175	179	180	180	170	169	175	180	182
Inicio premaduración (°Th)	17,0	18,0	17,0	20,5	23,0	21,5	16,5	16,0	18,0	20,0	18,0	20,0
Fin premaduración (°Th)	17,5	18,0	17,0	20,5	22,5	22,0	16,5	16,5	18,0	20,0	20,0	21,9
1ª agitación (°Th)	10,0	12,0	10,5	15,0	15,3	15,0	10,0	9,3	11,0	14,0	14,8	15,0
Desuere parcial (°Th)	10,0	12,0	11,0	15,0	14,5	15,0	9,5	11,0	11,0	14,0	15,0	15,5
Fin cocimiento (°Th)	9,5	9,0	10,0	11,0	12,0	12,5	9,5	9,0	8,0	14,0	12,0	11,0
Post adición cultivo adjunto (°Th)				18,0	16,0	16,0	14,0	14,8	13,0	18,0	17,0	17,0
Desuere final (°Th)	9,0	9,0	10,0	18,5	16,0	15,0	13,0	14,0	12,0	18,0	17,0	17,0
Tiempo de coagulación (min)	48	44	38	49	37	39	43	40	41	39	38	35

\* Análisis realizados en duplicado

## ANEXO 10. Resultados de análisis fisicoquímicos realizados al producto terminado.

Análisis (*)	T1			T2			T3			T4		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>pH</b>												
Prensa	5,90	6,10	5,93	5,48	5,70	5,80	5,91	5,83	6,00	5,87	5,85	6,07
24 horas	5,41	5,45	5,30	5,20	5,40	5,42	5,38	5,50	5,30	5,56	5,48	5,52
Inicio maduración	5,28	5,35	5,30	5,05	5,08	5,10	5,29	5,37	5,28	5,00	5,13	5,17
Fin maduración	5,31	5,27	5,40	4,98	5,15	5,00	5,35	5,29	5,35	4,92	5,17	5,05
<b>Rendimiento</b>												
Práctico inicio maduración (kg queso/100 kg leche)	9,47	8,99	8,79	10,38	9,97	9,98	8,88	9,27	8,88	10,09	9,23	10,19
Teórico (kg queso/100 kg leche)	7,74	6,89	7,10	7,38	7,77	7,78	7,66	7,21	7,00	7,22	7,85	8,05
Práctico fin maduración (kg queso/100 kg leche)	8,38	8,13	8,25	8,94	8,68	9,14	8,51	8,49	8,45	9,18	8,60	9,45
Materia grasa en queso fin maduración (%)	16,75	16,75	16,50	16,25	18,75	17,00	16,00	16,35	17,00	14,95	19,00	19,50
Extracto seco queso fin maduración (%)	48,73	48,89	51,04	44,97	51,68	46,72	48,52	49,97	49,99	44,97	51,26	49,15
Humedad en queso fin maduración (%)	51,27	51,11	48,96	55,03	48,32	53,28	51,48	50,03	50,01	55,03	48,74	50,85
Materia grasa en base seca fin maduración (% m/m, mínimo)	34,37	34,26	32,33	36,14	36,28	36,39	32,98	32,72	34,01	33,24	37,07	39,67
Humedad en queso desgrasado fin maduración (% m/m, mínimo)	61,59	61,39	58,63	65,71	59,47	64,19	61,29	59,81	60,25	64,70	60,17	63,17

\* Análisis realizados en duplicado

### ANEXO 11. Resultados de evaluación sensorial realizada al producto terminado.

R	T	Panelista	Aceptación general	Diferencia Color	Apreciación color	Diferencia aroma	Apreciación aroma	Diferencia gusto	Apreciación gusto	Diferencia textura	Apreciación textura
1	1	1	6,0								
1	1	2	6,0								
1	1	3	6,0								
1	1	4	6,0								
1	1	5	6,0								
1	1	6	5,0								
1	1	7	6,0								
1	1	8	6,0								
1	2	1	4,5	1	-1	2	-1	3	1	3	1
1	2	2	2,0	1	-1	2	-1	4	1	4	1
1	2	3	5,0	1	-1	1	-1	1	-1	1	1
1	2	4	5,0	3	-1	3	-1	2	1	1	1
1	2	5	6,0	2	-1	3	-1	1	-1	3	1
1	2	6	4,0	1	-1	2	-1	2	-1	2	1
1	2	7	5,0	3	-1	3	-1	0	0	2	1
1	2	8	4,0	2	-1	1	-1	1	1	2	1
1	3	1	6,0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	3	2	6,0	0	0	1	1	1	1	1	1
1	3	3	6,0	0	0	1	1	1	1	1	1
1	3	4	6,0	3	1	0	0	3	1	2	1
1	3	5	7,0	0	0	3	1	1	1	0	0
1	3	6	3,0	1	-1	1	-1	2	-1	4	-1
1	3	7	3,0	0	0	2	1	2	1	2	1
1	3	8	6,0	0	0	0	0	0	0	1	1



(Continuación ANEXO 11).

R	T	Panelista	Aceptación general	Diferencia Color	Apreciación color	Diferencia aroma	Apreciación aroma	Diferencia gusto	Apreciación gusto	Diferencia textura	Apreciación textura
1	4	1	4,0	2	-1	1	1	3	1	4	1
1	4	2	3,0	0	0	1	1	2	1	2	-1
1	4	3	3,0	1	-1	2	1	2	1	2	1
1	4	4	4,0	2	-1	2	1	1	1	0	0
1	4	5	6,0	3	-1	0	0	3	-1	3	-1
1	4	6	4,0	0	0	0	0	2	1	2	1
1	4	7	4,0	3	-1	3	-1	4	-1	4	1
1	4	8	4,0	0	0	2	1	2	1	2	1
2	1	1	6,0								
2	1	2	6,0								
2	1	3	6,0								
2	1	4	5,0								
2	1	5	5,0								
2	1	6	5,0								
2	1	7	6,0								
2	1	8	6,0								
2	2	1	3,0	0	0	1	1	1	1	2	1
2	2	2	3,5	2	-1	2	-1	3	1	4	-1
2	2	3	4,0	2	-1	2	-1	2	-1	3	1
2	2	4	3,0	1	-1	0	0	3	-1	1	-1
2	2	5	2,0	3	-1	0	0	1	1	3	1
2	2	6	2,0	2	-1	1	-1	2	-1	2	1
2	2	7	5,0	2	-1	1	-1	3	-1	3	1
2	2	8	4,0	3	-1	0	0	1	1	1	1

(Continuación ANEXO 11).

R	T	Panelista	Aceptación general	Diferencia Color	Apreciación color	Diferencia aroma	Apreciación aroma	Diferencia gusto	Apreciación gusto	Diferencia textura	Apreciación textura
2	3	1	5,0	2	1	2	1	3	-1	1	-1
2	3	2	6,0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	3	3	2,0	2	-1	4	-1	4	-1	4	0
2	3	4	4,0	1	-1	0	0	2	1	0	0
2	3	5	5,0	2	1	2	1	2	1	2	1
2	3	6	5,0	1	1	1	-1	2	-1	1	1
2	3	7	6,0	0	0	0	0	1	1	0	0
2	3	8	5,0	0	0	1	1	3	1	0	0
2	4	1	3,0	1	-1	0	0	3	-1	2	-1
2	4	2	5,0	1	-1	1	1	2	1	3	-1
2	4	3	6,0	2	1	2	1	2	1	2	1
2	4	4	3,0	1	-1	0	0	1	-1	1	-1
2	4	5	7,0	2	-1	2	-1	3	-1	2	-1
2	4	6	2,0	2	1	1	-1	1	1	3	-1
2	4	7	5,0	2	-1	0	0	3	-1	3	-1
2	4	8	3,0	1	-1	1	1	0	0	3	-1
3	1	1	6,0								
3	1	2	5,0								
3	1	3	5,5								
3	1	4	3,0								
3	1	5	5,0								
3	1	6	5,0								
3	1	7	6,0								
3	1	8	5,5								

(Continuación ANEXO 11).

R	T	Panelista	Aceptación general	Diferencia Color	Apreciación color	Diferencia aroma	Apreciación aroma	Diferencia gusto	Apreciación gusto	Diferencia textura	Apreciación textura
3	2	1	3,0	1	-1	2	-1	1	-1	2	-1
3	2	2	3,0	2	-1	3	1	2	1	2	1
3	2	3	4,0	3	-1	2	-1	3	-1	3	-1
3	2	4	5,0	2	1	2	1	3	1	3	1
3	2	5	4,0	1	-1	2	-1	2	1	1	1
3	2	6	3,0	1	-1	0	0	2	-1	3	-1
3	2	7	5,0	0	0	1	-1	3	-1	1	-1
3	2	8	4,5	1	-1	1	-1	2	-1	2	1
3	3	1	6,0	0	0	1	1	2	1	1	-1
3	3	2	5,0	0	0	2	-1	2	-1	0	0
3	3	3	6,0	1	1	2	1	1	-1	2	1
3	3	4	3,0	2	1	1	1	1	1	0	0
3	3	5	5,0	0	0	3	1	2	1	3	1
3	3	6	6,0	0	0	1	1	1	1	1	1
3	3	7	3,0	2	1	3	-1	2	-1	0	0
3	3	8	7,0	1	1	1	1	2	1	0	0
3	4	1	3,0	0	0	2	-1	0	0	2	-1
3	4	2	3,0	2	-1	3	1	3	1	3	-1
3	4	3	3,0	3	-1	3	-1	4	-1	3	-1
3	4	4	6,0	2	-1	0	0	3	1	2	-1
3	4	5	5,0	2	-1	1	1	4	-1	3	-1
3	4	6	5,0	1	1	1	1	1	1	2	1
3	4	7	4,0	1	-1	2	-1	2	-1	3	-1
3	4	8	4,5	1	-1	2	-1	2	-1	1	-1