



Universidad Austral de Chile

Escuela de Ingeniería en Alimentos

Efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* sobre la maduración de Gauda reducido en grasa

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

Carolina Edith Navarrete Montecinos

Valdivia – Chile
2007

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

Sra. Renate Schöbitz Twele
Tecnólogo Medico, M. Sc. Food Microbiology
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

*Agradezco a todas las personas que
hicieron posible la realización de este
trabajo, especialmente a mi profesora
patrocinante Sra. Carmen Brito,
y profesoras informantes señoras
Luz H. Molina y Renate Schöbitz,
personal del ICYTAL y de la planta piloto.*

*Y a mis padres Edith y Armando,
por su apoyo incondicional durante mis años
de estudio y siempre...*

Carolina

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
2.1	Situación nutricional nacional y mundial	2
2.2	Enfermedades relacionadas con el consumo grasas saturadas	2
2.3	Alimentos funcionales	3
2.4	Microorganismos probióticos	4
2.4.1	Microorganismos usados como probióticos	4
2.4.2	Aplicación de los probióticos	5
2.4.3	Factores biológicos y tecnológicos en el uso de probióticos	5
2.4.4	Efectos en las propiedades de los productos lácteos	6
2.4.5	Características del grupo <i>L. casei</i>	6
2.4.5.1	Utilización del grupo <i>L. casei</i> como cultivo adjunto en el queso	6
2.4.5.2	Propiedades benéficas para la salud	6
2.5	Desarrollo de quesos funcionales	7
2.5.1	Quesos probióticos	7
2.5.2	Disminución del contenido de materia grasa en el queso	8
2.6	Aspectos generales en la maduración del queso	8
2.7	Queso Gauda	13
2.7.1	Historia	13
2.7.2	Definición	13
2.7.3	Características físicas, químicas, sensoriales y sanitarias	13
2.7.4	Importancia del queso Gauda chileno	14
3	MATERIAL Y METODOS	15
3.1	Lugar de trabajo	15
3.2	Materiales y equipos	15
3.3	Metodología de trabajo	15
3.3.1	Diseño experimental	15
3.3.2	Análisis	16
3.3.2.1	Análisis físicos y químicos	16
3.3.2.2	Recuento de bacterias probióticas viables	16
3.3.2.3	Proteólisis	16
3.3.2.4	Análisis de propiedades sensoriales	16
3.3.2.5	Análisis estadísticos	17
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
4.1	Características físicas y químicas	18
4.1.1	Contenido de humedad (%)	18
4.1.2	Contenido de materia grasa	21
4.1.3	Contenido de sal (NaCl)	23
4.1.4	pH	25

4.2	Evolución de la proteólisis	27
4.3	Viabilidad de <i>L.paracasei</i> a través de la maduración del queso	29
4.4	Análisis sensorial del queso	32
4.4.1	Sabor	33
4.4.2	Atributos de textura	35
4.4.2.1	Firmeza	35
4.4.2.2	Elasticidad	37
4.4.2.3	Adhesividad	38
4.4.2.4	Cohesividad	38
4.4.3	Apreciación general	39
5	CONCLUSIONES	41
6	RESUMEN - SUMMARY	42
7	BIBLIOGRAFÍA	44
8	ANEXOS	50

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición de algunos quesos seleccionados	2
2	Microorganismos usados como probióticos	5
3	Requisitos físicos y químicos del queso Gauda	14
4	Características físicas y composicionales del queso Gauda al final del período de maduración	18
5	Contenido de humedad (%) de queso Gauda a comienzo y fines de la maduración	19
6	Contenido de Materia grasa (%) y MG/BS (%) al final de la maduración de queso Gauda	22
7	Contenido de sal y S/H al final de la maduración de queso Gauda (21 días)	23
8	Valores de pH al inicio y final de la maduración de queso Gauda	25
9	Contenido de tirosina soluble en TCA 12% (mg/g) al inicio y final de la maduración	27
10	Recuento (ufc/g) de <i>L.paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> durante la maduración del queso	29
11	Calificaciones otorgadas por los panelistas al sabor, textura y apreciación general de los quesos	33

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Resumen de las reacciones bioquímicas que operan en el queso durante la maduración	9
2	Resumen del metabolismo de la lactosa en el queso	10
3	Resumen de la lipólisis en el queso	11
4	Resumen de la proteólisis y catabolismo de los aminoácidos en el queso durante la maduración	12
5	Disminución de la humedad (%) durante el periodo de maduración	20
6	Contenido de materia grasa (MG) (%) y materia grasa en base seca (MG/BS) (%) de queso Gauda	22
7	Contenido de Sal (%) y S/H (%) de queso Gauda al final de la maduración	24
8	Comportamiento del pH, por tratamiento, al inicio y fines de maduración del queso Gauda	26
9	Proteólisis, expresada como tirosina soluble en TCA (12%) en los quesos al inicio y final de la maduración	28
10	Fotografías de las placas de agar MRS-IM con las colonias de <i>L.paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	30
11	Viabilidad de <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> a través de la maduración del queso	31
12	Calificaciones promedio para el atributo 'Sabor' otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración	34
13	Calificaciones promedio para el atributo "Firmeza" otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración	36
14	Calificaciones promedio para el atributo "Elasticidad" otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración	37
15	Calificaciones promedio para el atributo "Cohesividad" otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración	39
16	Calificaciones promedio para el atributo "Apreciación general" otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración	40

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Planilla de evaluación sensorial	51
2	Descripción de atributos sensoriales de queso Gauda	52
3	Resultados análisis físicos y químicos	53
4	Calificaciones otorgadas en la evaluación sensorial de los quesos para todos los atributos evaluados	56
5	Test de concordancia de Kendall para panelistas de evaluación sensorial	59
6	Resultados de los recuentos de <i>L.paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	60
7	Procedimientos de los métodos de análisis	61
7.1	Determinación de tirosina soluble en TCA	61
7.2	Análisis microbiológico para recuento de <i>L.paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	62
8	Curva estándar de tirosina soluble en TCA 12%	63
9	Línea de flujo proceso de elaboración queso Gauda	64
10	Análisis estadísticos para el contenido de humedad	65
11	Análisis estadístico para el contenido de humedad en queso desgrasado (HQD)	68
12	Análisis estadístico para el contenido de materia grasa	68
13	Análisis estadístico para el contenido de materia grasa en base seca (MG/BS)	69
14	Análisis estadístico para el contenido de sal (NaCl)	69
15	Análisis estadístico para el contenido de sal en humedad (S/H)	70
16	Análisis estadístico para el pH	70
17	Análisis estadísticos para el contenido de tirosina soluble en TCA 12%	74
18	Análisis estadísticos para el recuento de <i>L.paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	77
19	Análisis estadístico para el sabor	78
20	Análisis estadístico para la firmeza	78
21	Análisis estadístico para la elasticidad	79
22	Análisis estadístico para la adhesividad	79
23	Análisis estadístico para la cohesividad	80
24	Análisis estadístico para la apreciación general	80

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad la nutrición ha experimentado un cambio en su preocupación desde la desnutrición hacia las enfermedades relacionadas con la alimentación, especialmente las enfermedades cardiovasculares en las que la alta ingesta de grasas saturadas y sodio en la dieta son factores que contribuyen de manera directa en ellas.

A raíz de lo anterior en el último tiempo han surgido los alimentos funcionales, los que, además de alimentar, cumplen una función beneficiosa en la salud de quien los consume.

En un alimento lácteo como el queso pueden incorporarse bacterias lácticas probióticas como *Lactobacillus paracasei*, la cual tiene comprobados efectos benéficos para la salud humana, principalmente en el balance de la microflora intestinal.

Hipótesis

“La reducción del contenido de materia grasa y la aplicación del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp.*paracasei* en queso Gauda permite obtener un producto final reducido en grasa de buena calidad sensorial y, con un número adecuado de bacterias probióticas viables para ser considerado un Gauda funcional.”

Objetivo general

Comparar la maduración de queso Gauda reducido en grasa con aplicación de cultivo probiótico y queso sin incorporación de estas dos variables, en sus características físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales.

Objetivos específicos

- Comparar las características físicas y químicas (pH, materia grasa, humedad, contenido de cloruros) entre los quesos funcionales y el queso control sin incorporación de las variables mencionadas.
- Medir y comparar el desarrollo de la proteólisis de los quesos funcionales y del control durante la maduración.
- Contabilizar el número de bacterias probióticas viables en los quesos durante la maduración (0, 14, 21, 28 y 35 días) y en el producto final.
- Comparar la calidad sensorial de los quesos funcionales y del queso control.
- Evaluar sensorialmente la textura de los quesos en estudio al término del período de maduración (21 días).

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Situación nutricional nacional y mundial

Para ARAYA y LUTZ (2003), en la actualidad la nutrición está experimentando un veloz cambio en ciertas áreas de interés desde las carencias nutricionales hasta la relación entre la alimentación y las enfermedades crónicas no transmisibles.

El último diagnóstico efectuado en Chile revela que las prioridades de intervención en salud y nutrición son: enfermedades cardiovasculares, obesidad, cáncer, hipertensión arterial, diabetes, osteoporosis y anemia, las cuales están relacionadas con la alimentación (URTEAGA, 2003).

Un dato importante en este sentido es que la prevalencia de obesidad entre niños y adolescentes está aumentando en 1,5% por año, lo que probablemente se debe a un sobreconsumo de alimentos altamente calóricos y a la inactividad física (BURROWS, 2000).

2.2 Enfermedades relacionadas con el consumo de grasas saturadas

El queso es un alimento altamente nutritivo que contiene componentes esenciales como proteínas, grasa, vitaminas, principalmente vitamina A, B12, riboflavina, y en menor medida, folato, además minerales como calcio, fósforo y magnesio (O'BRIEN y O'CONNOR, 2004) (CUADRO 1). Con respecto a la grasa del queso, está constituida por 66% de ácidos grasos saturados, 30% monoinsaturados y 4% de poliinsaturados, aproximadamente. Debido a esto el queso representa una fuente dietaria importante de grasa total y saturada (URTEAGA, 2003; O'BRIEN y O'CONNOR, 2004).

CUADRO 1 Composición de algunos quesos seleccionados.

Variedad	Agua (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Carbohidratos (%)	Colesterol (%)
Camembert	50,7	20,9	23,7	Trazas	0,075
Cheddar	36	25,5	34,4	0,1	0,1
Cottage	79,1	13,8	3,9	2,1	0,013
Gouda	40,1	24	31	Trazas	0,1
Parmesano	18,4	39,4	32,7	Trazas	0,1

Fuente: O'BRIEN y O'CONNOR (2004)

Los alimentos lácteos como el queso, han sido asociados con el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer de mamas debido al alto contenido de colesterol y ácidos grasos saturados de éstos (DURING *et al.*, 2000; MOORMAN y TERRY, 2004).

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte en el mundo occidental, y niveles altos de colesterol plasmático son un indicador de riesgo importante para el desarrollo de esta patología (VALENZUELA y RONCO, 2004).

El contenido de colesterol del queso está en función del contenido de grasa y varía dependiendo de la variedad (CUADRO 1), pero la mayor influencia en el nivel de colesterol sanguíneo no es del colesterol dietario sino de la grasa saturada dietaria, ya que la ingesta de ácidos grasos saturados elevan el colesterol total y LDL de la sangre, lo que se asocia con un riesgo de enfermedades coronarias como aterosclerosis (O'BRIEN y O'CONNOR, 2004).

La grasa dietaria también cumple un rol en otro problema importante de salud pública, la obesidad, debido a su contenido energético elevado y escaso poder de saciedad (MORALES et al., 2003).

2.3 Alimentos funcionales

Alimento funcional se define como aquel que “está suficientemente demostrado que actúa de forma beneficiosa sobre una o más funciones del cuerpo, más allá de su efecto nutricional, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad” (DIPLOCK et al., 1999). Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se le ha modificado, añadido o eliminado algún constituyente, o un alimento en el que se ha modificado la biodisponibilidad de un componente, o una combinación de estas posibilidades (FERRER y DALMAU, 2001).

Con respecto a lo anterior cabe destacar que en Chile debe aplicarse una terminología establecida para referirse a un producto al cual se le ha disminuido la cantidad de un nutriente (CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 2004).

El término “reducido” debe aplicarse al producto modificado nutricionalmente que contiene 25% menos de un nutriente particular o 25% menos de las kilocalorías del alimento normal de referencia.

Por su parte el término “liviano” debe aplicarse al producto modificado que contiene un tercio menos de las calorías o 50% menos de la grasa que el alimento de referencia.

“Bajo aporte” se aplica cuando una porción de consumo habitual contiene un máximo de: 40 kilocalorías; 3 g de grasa total; 1 g de grasa saturada, el cual no deberá representar un porcentaje superior al 15% de las kilocalorías en la porción; 20 mg de colesterol; 140 mg de sodio.

Existen muchos componentes de alimentos en los que se ha demostrado su efecto beneficioso sobre determinadas funciones del organismo, como vitaminas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados, probióticos, prebióticos. Por ejemplo, el yogurt con bacterias probióticas, el ácido fólico en los cereales, los ácidos grasos ω -3 en las margarinas y productos lácteos son alimentos funcionales de especial interés, ya que al agregarlos a los alimentos por diferentes mecanismos son eficaces en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades (FERRER y DALMAU, 2001).

2.4 Microorganismos probióticos

En los recientes años, ha surgido un interés renovado en el uso de microorganismos en alimentos debido a su aporte en el sabor y aroma, pero principalmente por sus aspectos beneficiosos en la restauración de la salud y tratamiento de enfermedades (CHUKEATIROTE, 2003).

Bajo condiciones naturales, se desarrolla una microflora protectora en el intestino y no es necesario un suplemento bacteriano, pero los cambios en los hábitos alimenticios y el estilo de vida han hecho que se consuman alimentos procesados y estériles, sustancias antibacterianas desde vinagre hasta antibióticos, lo que afecta el acceso y la colonización de ciertos tipos de bacterias (ANURADHA y RAJESHWARI, 2005).

Según SANZ *et al.* (2003), los probióticos son productos que contienen microorganismos definidos y viables en concentración suficiente para modificar la microflora del huésped, ejerciendo así un efecto beneficioso sobre la salud de éste.

Los principales efectos benéficos para la salud de humanos y animales de los probióticos son el balance de la microflora intestinal, el mejoramiento del sistema inmune y prevención de cáncer (CHUKEATIROTE, 2003).

Los cultivos probióticos deben tolerar las condiciones ácidas del estómago, las enzimas digestivas y sales biliares del intestino delgado, por lo tanto están capacitados para colonizar el ileon terminal y el colon. Sin embargo, cada cepa tiene propiedades únicas con respecto a la velocidad de crecimiento, actividad metabólica y proteolítica y producción de sabor (DE VUYST, 2000).

LIONG y SHAH (2005), encontraron que cepas de lactobacilos (*acidophilus* y *casei*) tienen buena tolerancia a los ácidos y bilis, y una alta remoción de colesterol a través de varios mecanismos.

Una bacteria antes de ser seleccionada como probiótico, debe cumplir los siguientes requisitos: no ser patógena, no tóxica, mantener viabilidad durante el almacenamiento y uso, tener la capacidad para sobrevivir y metabolizar en el intestino y finalmente tener efectos en la salud documentados (ANURADHA y RAJESHWARI, 2005).

Se sugiere que el número mínimo de bacterias probióticas al momento del consumo de un producto probiótico sea de 10^7 células viables por mililitro o gramo de producto. La dosis terapéutica mínima debería ser 10^8 a 10^9 células viables, lo cual se puede conseguir con una ingesta de aproximadamente 100 gramos de un producto que contiene 10^6 - 10^7 células viables por mililitro o gramo (DE VUYST, 2000). Además, ROY (2005), señala que la industria láctea, en general, ha establecido poblaciones de 10^6 ufc/g de la cepa que se ha agregado al momento del consumo, y que este estándar se ha adoptado basándose en consideraciones tecnológicas y económicas.

2.4.1 Microorganismos usados como probióticos. Según CHUKEATIROTE (2003), las especies más usadas como probióticos pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL), un grupo de bacterias Gram positivas, que está constituido por varias especies incluyendo los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Bifidobacterium* y *Weissella*. Así mismo, los lactobacilos y las bifidobacterias constituyen una proporción significativa de las bacterias ácido lácticas probióticas usadas en países desarrollados (DE VUYST, 2000).

El uso de BAL en alimentos tiene una larga historia y la mayoría de las cepas son consideradas microorganismos comestibles sin potencial patogénico. (SALMINEN y OUWEHAND, 2002).

Los miembros del género *Lactobacillus* son generalmente reconocidos como seguros (GRAS), mientras los miembros del género *Streptococcus* y *Enterococcus* contienen muchos patógenos oportunistas (SALMINEN y OUWEHAND, 2002).

CUADRO 2 Microorganismos usados como probióticos.

Lactobacilos	Bifidobacterias	Otras BAL	No BAL
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Bif. animalis</i>	<i>Ec. faecium</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>Bif. breve</i>	<i>Ec. faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Lb. johnsonii</i>	<i>Bif. infantis</i>	<i>Lc. lactis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lb. reuteri</i>	<i>Bif. longum</i>		<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Lb. rhamnosus</i>	<i>Bif. adolescentis</i>		<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Lb. salivarius</i>	<i>Bif. lactis</i>		<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lb. paracasei</i>	<i>Bif. bifidum</i>		
<i>Lb. fermentum</i>			
<i>Lb. plantarum</i>			
<i>Lb. crispatus</i>			
<i>Lb. gasseri</i>			

Fuente: SALMINEN y OUWEHAND (2002)

2.4.2 Aplicación de los probióticos. Los productos probióticos comercializados actualmente se pueden dividir en tres tipos: a) los alimentos fermentados convencionales a los que se les adicionan probióticos y que se consumen, principalmente, con fines nutritivos (yogures, leche, quesos, etc.); b) las leches cultivadas y fermentadas, utilizadas, básicamente, como vehículos de bacterias probióticas, y c) los suplementos dietéticos o preparaciones farmacéuticas liofilizadas (SANZ et al., 2003).

2.4.3 Factores biológicos y tecnológicos en el uso de probióticos. Los factores que deberían ser considerados en el desarrollo de alimentos que contengan probióticos son: selección de la cepa (con respecto a sus propiedades biológicas y tecnológicas), nivel de inóculo, toxicidad, adaptación al proceso (principalmente tipo de sustrato, competencia con otros cultivos lácticos, calentamiento), identificación y enumeración de la población viable, estabilidad durante el almacenamiento (pH, oxígeno), cambios en las propiedades sensoriales (CHAMPAGNE y GARDNER, 2005).

Del mismo modo, para SHAH (2000), la viabilidad de la bacteria probiótica en productos lácteos fermentados hechos con cultivos iniciadores comerciales podría estar dada por adición de micronutrientes en forma de péptidos y aminoácidos o cisteína, además, otras formas para proveer viabilidad incluyen adaptación al estrés, microencapsulación, fermentación en 2 pasos, selección de cepas resistentes a ácidos y bilis y uso de contenedores apropiados que sean impermeables al oxígeno.

2.4.4 Efectos de los probióticos en las propiedades de los productos lácteos.

Según CHAMPAGNE y GARDNER (2005), cuando las células probióticas representan menos que el 10% de la población total en el producto fermentado, su efecto en las propiedades sensoriales es mínimo. Frecuentemente hay cambios en la composición química y textura de los productos fermentados, pero esos cambios no necesariamente afectan al sabor.

En muchos casos, basados en evaluaciones sensoriales, no se observan diferencias claras entre los gustos de quesos que contienen probióticos y los controles hechos solo con los cultivos *starters*¹ (DINAKAR y MISTRY, 1994; GARDNER *et al.*, 1998; GOBBETTI *et al.*, 1998; SONGISEPP *et al.*, 2004; KALAVROUZIOTI *et al.*, 2005).

2.4.5 Características del grupo *Lactobacillus casei*. Los miembros del grupo *L. casei* son bastones inmóviles, no formadores de esporas, catalasa negativos, gram positivos y generalmente de 0.7 – 1.1 µm x 2.0 -4.0 µm, encontrándose solos, en pares o en cadenas. Todas las especies en el grupo son heterofermentativos facultativos que producen ácido láctico como el principal producto final de la fermentación y no producen gas de la glucosa. En condiciones limitadas de glucosa, producen tres otros productos, ácido acético, etanol y ácido fórmico. A este grupo pertenecen las especies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* y *Lactobacillus rhamnosus*. En particular, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* crece a 10°C pero no a 45°C, y el ácido láctico producido en la fermentación de la lactosa corresponde generalmente al L-isómero (CURRY y CROW, 2002).

2.4.5.1 Utilización del grupo *L. casei* como cultivo adjunto en el queso. Las cepas más usadas son *L. paracasei* y *L. rhamnosus*, los cuales no contribuyen de manera importante a la producción de ácido pero por lo general crecen en la maduración del queso a altas densidades (10^7 – 10^8 ufc/g) y mantienen altas densidades por periodos sostenidos. En los primeros meses de maduración, las densidades y contribuciones a la maduración son generalmente insignificantes comparados con el *starter*, luego comienzan a aumentar las densidades de las bacterias lácticas no *starter* y los efectos de sus enzimas son más importantes (CURRY y CROW, 2002).

2.4.5.2 Propiedades benéficas para la salud. Se han reportado varios efectos benéficos en la salud, entre ellas se puede mencionar que *Lactobacillus paracasei*

⁽¹⁾cultivo starter: cultivo iniciador

subsp. *paracasei* puede ser usado en el tratamiento del síndrome de colon irritable post infeccioso (VERDU *et al.*, 2004). Evidencias señalan que esta bacteria previene desórdenes ecológicos durante la administración de antibióticos como la clindamicina (SULLIVAN *et al.*, 2003).

Además, sobrevive el tránsito gastrointestinal y coloniza el intestino (CRITTENDEN *et al.*, 2002).

2.5 Desarrollo de quesos funcionales

2.5.1 Quesos probióticos. Según GARDINER *et al.* (1998), el queso Cheddar ofrece ciertas ventajas como vehículo de microorganismos probióticos por tener un pH más alto que otros productos lácteos fermentados (Ej., yogurt y leches fermentadas) lo que provee de un medio más estable para soportar su sobrevivencia, y la matriz del queso y su relativamente alto contenido de grasa que puede ofrecer protección a las bacterias probióticas durante su paso a través del tracto gastrointestinal.

Del mismo modo, DE VUYST (2000), indica que el queso puede ser más efectivo que el yogurt para llevar bacterias probióticas al tracto gastrointestinal, así, GARDINER *et al.* (1999), comprobaron la eficacia del queso Cheddar como un vehículo mejor que el yogurt para el transporte del probiótico *E. faecium* al tracto gastrointestinal.

Varios investigadores han logrado, con éxito, introducir bacterias probióticas a diferentes variedades de queso. Con respecto al uso de bifidobacterias, DINAKAR y MISTRY (1994), elaboraron un queso Cheddar agregando esta bacteria, donde concluyeron que es posible mantener la viabilidad del probiótico durante 6 meses. De igual forma DAIGLE *et al.* (1999) y BLANCHETTE *et al.* (1996), introdujeron *Bifidobacterium infantis* a queso Cheddar y Cottage respectivamente. En queso Cheddar la bacteria mantuvo altos niveles de viabilidad durante la elaboración y al final de la maduración del queso, mientras que en queso Cottage la viabilidad del probiótico se mantuvo durante 10 a 15 días. Además la cepa exhibió una alta actividad metabólica en el queso. Por su parte, GOBETTI *et al.* (1998), incorporaron bifidobacteria en queso Crescenza dando como resultado un queso de características muy similares al queso Crescenza tradicional.

GARDINER *et al.* (1998) y KALAVROUZIOI *et al.* (2005), encontraron que cepas de *Lactobacillus paracasei* crecieron y mantuvieron una alta viabilidad en queso Cheddar y en un queso duro (Kefalotyri) respectivamente.

KASIMOĞLU *et al.* (2004), elaboraron un queso blanco probiótico con adición de *Lactobacillus acidophilus*, en su investigación encontraron que el formato más adecuado es el envasado al vacío, para lograr un adecuado nivel de proteólisis y características sensoriales óptimas.

Por su parte, FERNANDEZ y RODRÍGUEZ (2005), adicionaron la cepa probiótica *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* como adjunto en un queso artesanal funcional de leche de cabra y la cepa mantuvo viabilidad a lo largo de la maduración en niveles superiores a 10^8 ufc/g.

Por último, SONGISEPP *et al.* (2004), elaboraron un queso probiótico basado en "Pikantne" (originario de Estonia) adicionando *Lactobacillus fermentum*. El queso mostró tener propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

2.5.2 Disminución del contenido de materia grasa en el queso. Según BANKS (2004), los primeros quesos bajos en grasa, especialmente variedades maduras de baja humedad, se caracterizaron por su textura y sabores atípicos con respecto al queso alto en grasa. Los quesos bajos en grasa se percibían como secos, excesivamente firmes y difíciles de masticar, además presentaban baja intensidad de sabor y sabores extraños como amargor.

La grasa en el queso se encuentra dispersa entre los agregados de caseína y el glóbulo de grasa no interactúa con la red de caseína. Por lo tanto, la grasa actúa como un relleno inerte, que separa físicamente los agregados de caseína. Al aumentar las interacciones entre los agregados, se pierde la suavidad y masticabilidad del queso, por lo que los quesos bajos en grasa son más firmes que los quesos con toda su grasa (JOHNSON, 2002).

Los enfoques desarrollados para eliminar estos defectos incluyen: manipulación de los parámetros de procesamiento con el fin de aumentar el nivel de humedad, control del contenido de lactosa, aumento de la superficie de los glóbulos de grasa por homogenización, selección de cultivos iniciadores, uso de cultivos adjuntos o enzimas para manipulación del sabor y textura, y el uso de estabilizantes e imitadores de grasa, particularmente para mejorar textura (BANKS, 2004).

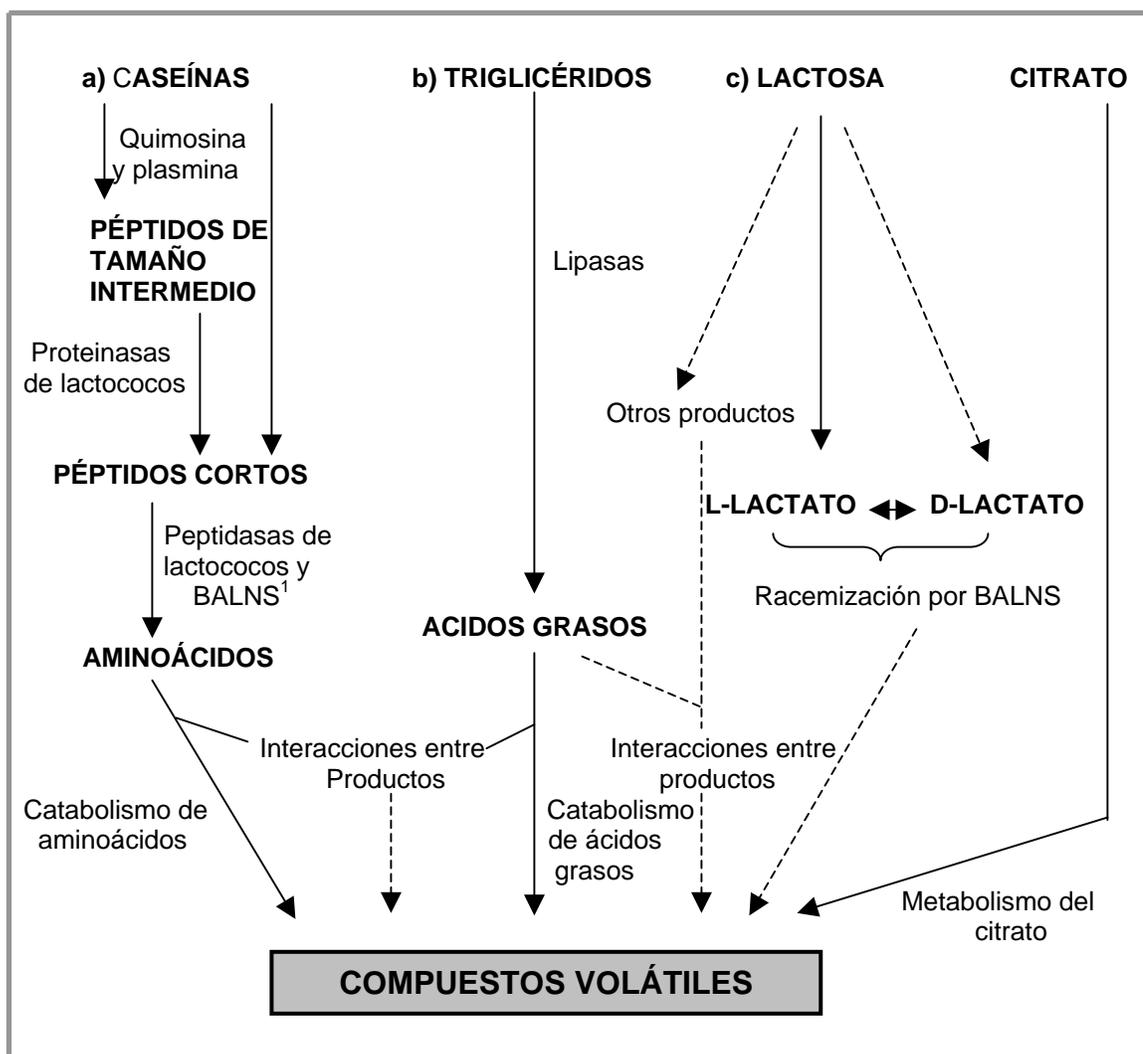
2.6 Aspectos generales en la maduración del queso

La aptitud al proceso de maduración de los quesos depende de la composición bioquímica de la cuajada que antes de la maduración ya ha sido determinada en el proceso de elaboración (SCOTT, 1991; BRITO *et al.*, 1995).

El objetivo de la maduración del queso es convertir la cuajada fresca, que difiere muy poco entre las distintas variedades, a una cuajada que posee diferentes características de apariencia, gusto, aroma, textura y funcionalidad, según el tipo de queso (FOX, 2002).

En la maduración del queso están involucrados agentes que provienen de 6 fuentes: enzimas coagulantes; enzimas nativas de la leche; bacterias iniciadoras y sus enzimas las cuales son liberadas después de la muerte y lisis de las células; enzimas de microorganismos iniciadores secundarios (los que adquieren mayor importancia en algunas variedades, como *Penicillium roqueforti* o *P. camemberti*); bacterias no-iniciadoras (BALNS), por ejemplo organismos que sobreviven a la pasteurización de la leche o posteriormente contaminan la leche o la cuajada; y, por último, enzimas exógenas que eventualmente se agregan para acelerar la maduración del queso (MCSWEENEY, 2004a).

En esta etapa se producen cambios en la textura, el sabor y aroma y se desarrollan nuevas características como consecuencia de los cambios bioquímicos que ocurren en este proceso (SCOTT, 1991). Las reacciones bioquímicas primarias son la glicólisis, proteólisis y lipólisis (TUNGJAROENCHAI *et al.*, 2001). Estas reacciones primarias son responsables principalmente de los cambios en textura y funcionalidad, mientras que el sabor es generado probablemente a través de la modificación de los productos de las reacciones primarias (FOX, 2002) (FIGURA 1).



¹ bacterias ácido lácticas no starter

FIGURA 1 Resumen de las reacciones bioquímicas que operan en el queso durante la maduración.

FUENTE: MCSWEENEY (2004a)

Respecto a la glicólisis, corresponde a la acción degradativa de los cultivos lácticos sobre la lactosa y se inicia desde que se agrega el cultivo láctico a la leche, prosigue durante el tratamiento de cuajada y durante la maduración (BRITO, 1993). MCSWEENEY (2004a) y FOX (2002), indican que la cuajada contiene un nivel bajo de lactosa (1–2 % residual) la que se metaboliza rápidamente en la primera etapa de la maduración a lactato (principalmente L-isómero), el cual puede ser catabolizado posteriormente por varias vías. Al final de la maduración la concentración de ácido láctico en el queso es de aproximadamente 1% en los quesos de masa lavada (FOX, 2002).

En la FIGURA 2 se observa la descomposición de la lactosa correspondiente a la glicólisis.

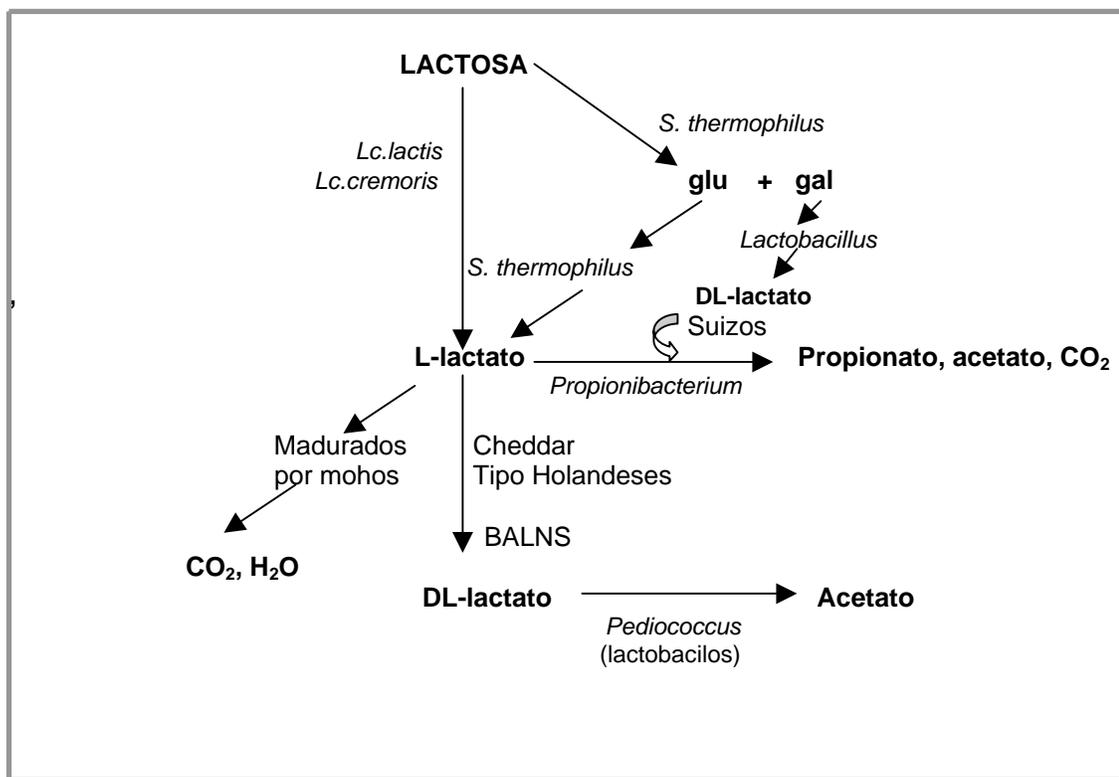


FIGURA 2 Resumen del metabolismo de la lactosa en el queso.

FUENTE: FOX (2002)

El lactato contribuye al sabor ácido del queso, principalmente en la primera etapa de la maduración, además es un sustrato importante para una serie de reacciones que ocurren durante la maduración y que contribuyen al sabor del queso. Es así como el L-lactato es racemizado a DL-lactato por la flora BALNS; algunos miembros de las BALNS, en presencia de O₂, pueden oxidar el lactato a ácido fórmico, etanol, CO₂ y acetato; por último, en la glicólisis de la lactosa, el intermediario piruvato puede ser convertido alternativamente a varios compuestos de sabor tales como diacetilo, acetoína, acetaldehído o ácido acético (SMIT *et al*, 2002; MCSWEENEY, 2004a).

Por otro lado, el ácido láctico influye sobre las características sensoriales del cuerpo o consistencia debido a las reacciones ocurridas entre éste y el paracaseinato bicálcico de la cuajada, las que remueven el calcio formándose el paracaseinato monocálcico y transformando la cuajada que en un principio es degradable y discontinua en una masa elástica, continua y flexible (BRITO, 1993).

La fermentación del citrato es otro evento bioquímico importante durante la maduración. La cuajada del queso Cheddar contiene típicamente 0.2 – 0.5 % de citrato (MCSWEENEY, 2004b), el que es un precursor importante de compuestos de sabor en

ciertas variedades elaboradas con *starter* mesófilos. Es metabolizado por cepas citrato positivas (Cit+) de lactococos, como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* y *Ln. lactis* (FOX, 2002). Los productos del metabolismo incluyen CO₂, que es responsable por los pequeños ojos de los quesos tipo holandeses, y compuestos importantes del sabor, particularmente diacetilo, que contribuye al sabor de dichos quesos, también puede ser metabolizado por algunas cepas de BALNS a acetoína, acetato y diacetilo (MCSWEENEY, 2004b).

La lipólisis corresponde a la hidrólisis de los triglicéridos a ácidos grasos libres, como ácido acético, butírico, propiónico, caproico, caprílico y cáprico, y aunque esta degradación no es extensiva en la maduración, sus productos son importantes en el sabor y aroma del queso, pero no causa modificaciones notables en la textura y consistencia (BRITO, 1993) (FIGURA 3).

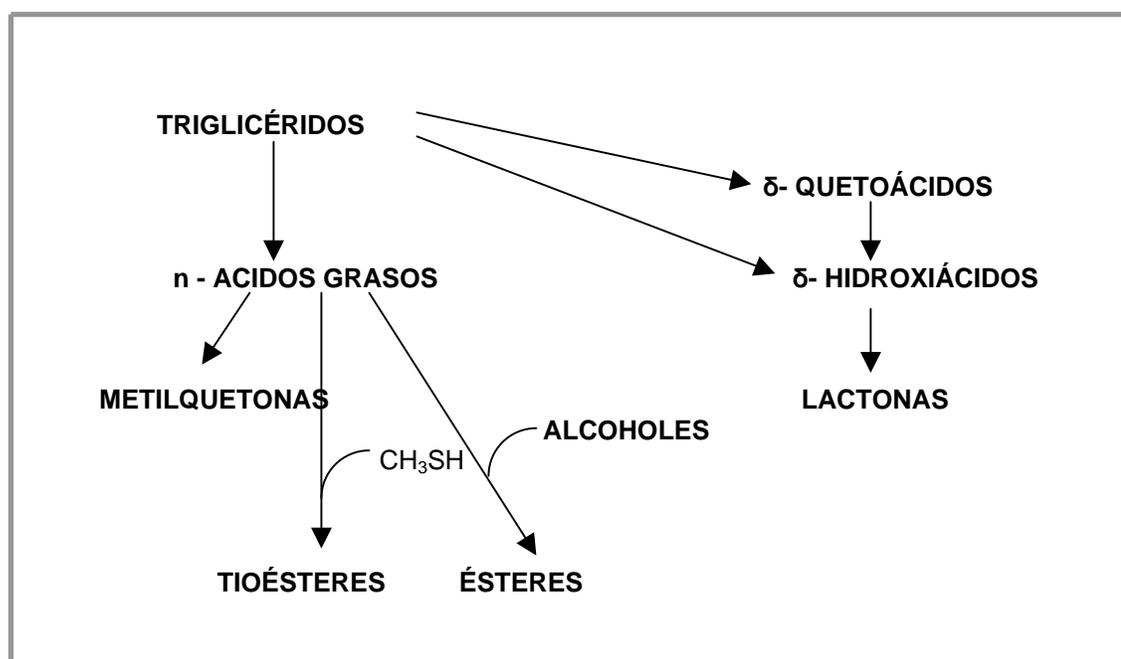


FIGURA 3 Resumen de la lipólisis en el queso.

FUENTE: FOX (2002)

Además, los ácidos grasos son importantes precursores para la producción de otros compuestos volátiles durante la maduración, como metilquetonas (en el caso de quesos madurados por mohos), lactonas, ésteres, alcanos y alcoholes secundarios. Por reacción de ácido graso con alcohol se forman ácidos grasos ésteres; al reaccionar ácido graso con tiol se forman tioésteres; las lactonas son compuestos cíclicos formados por la esterificación intramolecular de hidroxiácidos (FOX, 2002; MCSWEENEY 2004a).

Las lipasas, responsables de la lipólisis, se originan de varias fuentes, como el coagulante, las enzimas de las bacterias ácido lácticas y las lipasas nativas de la leche que son más importantes en los quesos elaborados con leche cruda (MCSWEENEY, 2004a).

La proteólisis es probablemente el fenómeno más importante de la maduración y es influenciada principalmente por la actividad de las enzimas microbianas, se inicia durante el transcurso del procesamiento y continúa durante la maduración (BRITO, 1993; TUNGJAROENCHAI *et al.*, 2001). En la FIGURA 4 se presenta un resumen de la proteólisis y sus reacciones.

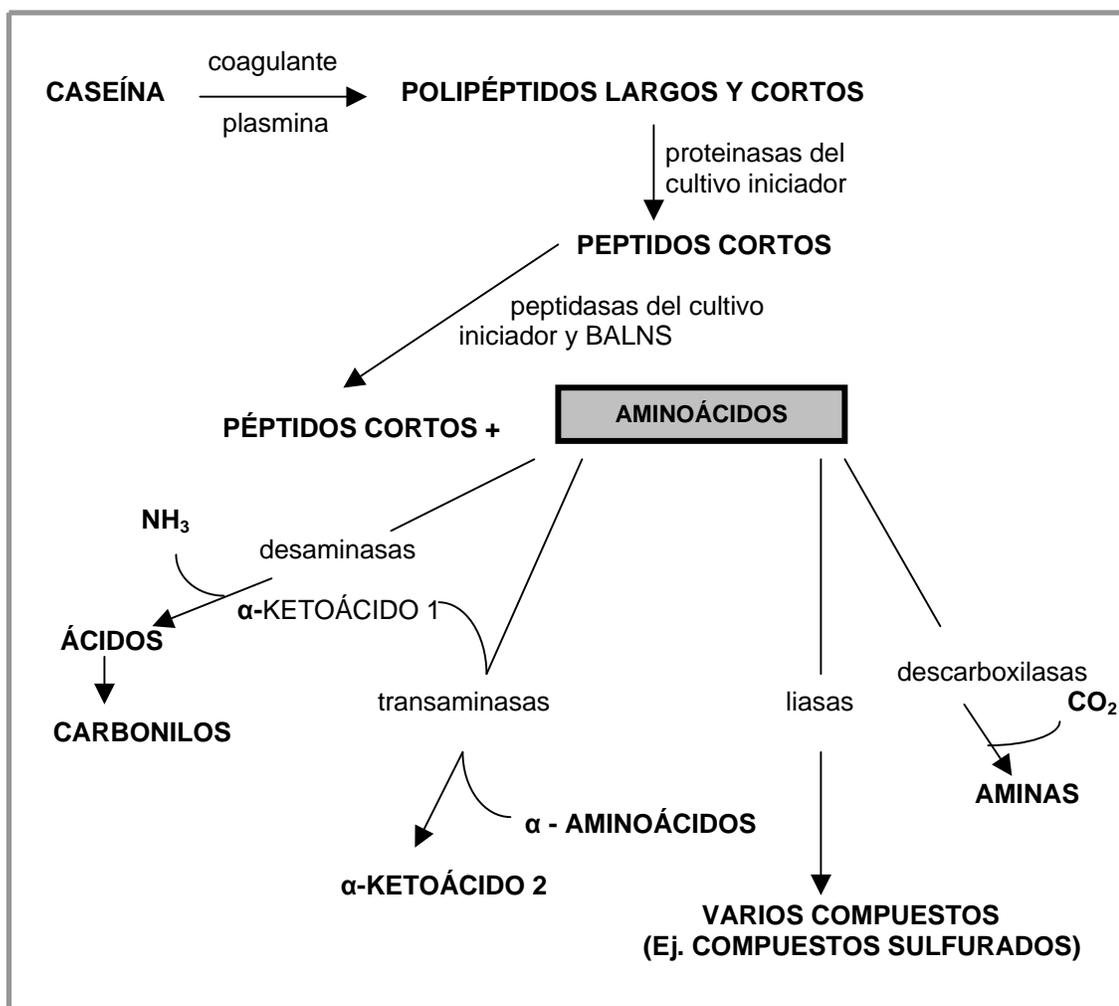


FIGURA 4 Resumen de la proteólisis y catabolismo de los aminoácidos en el queso durante la maduración.

FUENTE: MCSWEENEY (2004a)

Esta reacción bioquímica es muy importante para la textura del queso ya que hidroliza la matriz de la *para*-caseína dando al queso su estructura e incrementando la capacidad de retención de agua de la cuajada. Además, la proteólisis puede afectar

indirectamente la textura por aumentar el pH a través de la producción de NH_3 (MCSWEENEY, 2004a). Sin embargo, el principal rol de la proteólisis es el efecto directo en el sabor ya que durante la maduración los compuestos nitrogenados insolubles sufren cambios a formas solubles (péptidos y aminoácidos que actúan como precursores de compuestos volátiles) que participan en el desarrollo del aroma y sabor (GONZALEZ del LLANO, 1990; MCSWEENEY, 2004a).

Los péptidos pueden causar amargor o sabor delicioso, los aminoácidos pueden causar gusto dulce, amargo o a “caldo”, sin embargo, la contribución directa de los péptidos y aminoácidos en el sabor se limita a gustos básicos y para el desarrollo de sabor específico del queso se requiere una conversión posterior de los aminoácidos a varios alcoholes, aldehídos, ácidos, ésteres y compuestos sulfurados (SMIT *et al.*, 2002), por medio de reacciones de descarboxilación, deaminación y desulfuración, además los aminoácidos también pueden reaccionar químicamente con carbonilos por medio de la reacción de Maillard y degradación de Strecker, con producción de una gran diversidad de compuestos sápidos (FOX, 1998).

La hidrólisis inicial de las caseínas es causada por el coagulante sobre el enlace FEN₍₁₀₅₎ – MET₍₁₀₆₎ de la K-caseína y en menor medida por la plasmina y tal vez proteinasas de las células somáticas (Ej. Catepsina D) lo que resulta en la formación de péptidos largos (insolubles) e intermedios (solubles) los que son posteriormente hidrolizados por las enzimas coagulantes y de la flora *starter* y *no-starter*. Luego la producción de péptidos pequeños y aminoácidos es causada por la acción de proteinasas y peptidasas microbianas (GONZALEZ del LLANO, 1990; MCSWEENEY, 2004a).

2.7 Queso Gauda

2.7.1 Historia. Según OLIVEIRA y BRITO (2006), no se conoce mucho acerca de la historia del queso Gauda chileno, pero se puede asumir que es una versión modificada del Gouda holandés y que fue introducido por especialistas europeos, iniciando la producción industrial en la década de 1950.

2.7.2 Definición. El queso Gauda “es un queso madurado, sin cáscara, que se elabora con leche pasteurizada de vaca, obtenido por coagulación enzimática coadyudado por la acidez desarrollada por los cultivos lácticos puros que se agregan; su maduración se produce en un envase de material retráctil durante un mínimo de 15 días en condiciones controladas” (CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN, 1999).

2.7.3 Características físicas, químicas, sensoriales y sanitarias. Debe cumplir los requisitos físicos y químicos que se indican en el CUADRO 3. Respecto a las características sensoriales, el queso debe ser sin cáscara, tener un cuerpo firme, textura cerrada o con escasos ojos redondos de cultivo, consistencia firme y elástica, adecuada para cortar, rebanar o laminar, color amarillo pálido y forma rectangular, con pesos entre 2 y 15 Kg. Además no debe contener impurezas o sustancias extrañas. Finalmente debe cumplir con los requerimientos sanitarios correspondientes a los

quesos de mediana humedad, establecidos en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (INN, 1999; CHILE, MINISTERIO DE SALUD, 2004).

CUADRO 3 Requisitos físicos y químicos del queso Gauda.

Requisitos	Queso Gauda	Queso Gauda semidescremado
Humedad (%)	46-48	48-50
Materia seca (%)	52-54	50-52
Materia grasa en extracto seco (%)	45-59,9	25-44,9
Nitrato de sodio o potasio	Dosis permitida según se señala en el Reglamento Sanitario de los Alimentos	Dosis permitida según se señala en el Reglamento Sanitario de los Alimentos
pH	5,1-5,3	5,1-5,3
Fosfatasa	negativa	negativa

FUENTE: INN (1999)

2.7.4 Importancia del queso Gauda chileno. Según CHILE, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS (ODEPA) (2006), la producción industrial de queso en Chile en los últimos 15 años ha seguido una tendencia al aumento. En el año 2006 se produjeron 62.071 ton, que corresponden al 34% de la recepción de leche en plantas lecheras, de las cuales 11.120 ton fueron exportadas, principalmente a México.

De todas las variedades de queso existentes en Chile, el Gauda ocupa el primer lugar en términos de producción industrial y comercialización (OLIVEIRA y BRITO ,2006; ESNAOLA, 2005). Este último autor estima que en el año 2004 aproximadamente el 70% del queso que se produjo industrialmente fue del tipo Gouda, seguido por el Chanco, que alcanzó el 20%. Además, un dato importante es que del total de exportaciones chilenas de queso, el Gauda representó el 92,8% entre los meses enero a marzo de 2007 (ODEPA, 2007).

3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Lugar de trabajo

La investigación se llevó a cabo en las dependencias del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile

Los quesos fueron almacenados en la cámara de maduración climatizada a 14°C y 85% de humedad relativa, con estantería de madera, termómetro, y ventiladores.

Los análisis físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales necesarios para la realización de este trabajo, se efectuaron en los laboratorios del ICYTAL entre los meses de septiembre y noviembre de 2006.

3.2 Materiales y equipos

Se utilizaron los materiales y equipos necesarios para el desarrollo de esta investigación que se mencionan en las metodologías.

3.3 Metodología de trabajo

Las muestras estudiadas provenían de quesos Gauda elaborados en estudio paralelo centrado en el procesamiento, tesis realizada por Ruth Salvo.

Los quesos se mantuvieron en maduración por un período de 3 semanas (21 días).

3.3.1 Diseño experimental. Se estudiaron 4 tratamientos con 3 repeticiones cada uno. Las variables estudiadas fueron la reducción del contenido de materia grasa y la incorporación del cultivo probiótico.

Tratamiento 1 (control): Queso Gauda normal en grasa. (*)

Tratamiento 2: Queso Gauda reducido en grasa. (**)

Tratamiento 3: Queso Gauda reducido en grasa (**) con cultivo adjunto *L. paracasei* subsp. *paracasei*, agregado al inicio del proceso.

Tratamiento 4: Queso Gauda reducido en grasa (**) con cultivo adjunto *L. paracasei* subsp. *paracasei*, agregado al cocimiento de la cuajada.

* elaborado con leche con 2.8 % de materia grasa

** elaborado con leche con 1.6 % de materia grasa.

Todos los tratamientos usaron como *starter* el cultivo mesófilo mixto normal, constituido por las cepas *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*,

Lactococcus lactis subsp. *diacetylactis* y *Leuconostoc cremoris* (cultivo comercial LD-Culture CH-N-22 del Laboratorio CHR. Hansen's).

El cultivo probiótico *L. paracasei* subsp. *paracasei* utilizado en los tratamientos 3 y 4 corresponde al cultivo comercial DVS liofilizado *L. casei* 01 del Laboratorio CHR. Hansen's.

3.3.2 Análisis. Muestreo de los quesos: Según la norma IDF/FIL 50C:1995.

3.3.2.1 Análisis físicos y químicos. Todos los análisis se realizaron en duplicado.

- **pH:** se determinó a los 0 y 21 días de maduración a través de método potenciométrico NCh.1671-1979 (CHILE, INN, 1979).
- **Sólidos totales:** a los 0 y 21 días de maduración por método gravimétrico. IDF/FIL 4 A: 1982, descrito por PINTO *et al.* (1998).
- **Materia grasa:** Método Van Gulik, NEN 3059:1957. LEIDEN, HOLANDA; ISO N° 3433. 1975, descrito por PINTO *et al.* (1998). Se llevó a cabo al final del periodo de maduración (21 días).
- **Contenido total de cloruros (NaCl):** Método titrimétrico. AOAC. INTERNATIONAL. 33.7.10. 1995, descrito por PINTO *et al.* (1998). Se llevó a cabo al final del periodo de maduración (21 días).

3.3.2.2 Recuento de bacterias probióticas viables. La evolución de *L. paracasei* subsp. *paracasei* durante la maduración fue medida a los 0, 14, 21, 28, además se midió a los 35 días (refrigeración por 1 semana). El protocolo de siembra se llevó a cabo según APHA (1992), y de acuerdo a indicaciones del proveedor del cultivo probiótico, se usó agar MRS-IM (agar MRS con algunos ingredientes modificados) para la siembra. la incubación se realizó a 36°C por 72 h (ANEXO 7, apartado 7.2).

3.3.2.3 Proteólisis. Se determinó el nivel de proteólisis a los 0 y 21 días de maduración a través del método de tirosina soluble en TCA (12 %), método de Hull (1947), adaptado por Arnott *et al.* (1957) y descrito por SAMPLES *et al.* (1984).

3.3.2.4 Análisis de propiedades sensoriales. Se llevó a cabo mediante un análisis descriptivo utilizando una escala de 1 a 7 puntos, incluyendo los atributos de sabor, apreciación general y un perfil de textura. La evaluación se realizó a los 21 días de maduración por un grupo de 8 panelistas semientrenados. La textura fue desglosada en 4 atributos: firmeza, elasticidad, adhesividad y cohesividad (ANEXO 1).

Para el entrenamiento de los panelistas, primero se realizó un reclutamiento entre estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos que previamente habían cursado la asignatura de Evaluación Sensorial, luego se hizo una selección por medio de pruebas de reconocimiento de sabores y olores básicos, y una vez seleccionados los panelistas, se llevaron a cabo 2 sesiones de 30 min. cada una, en la primera se presentó el queso Gauda (con muestras adquiridas en supermercados), sus principales

atributos y la forma de evaluarlos sensorialmente. En la segunda sesión los panelistas se familiarizaron con el método y la pauta diseñada para registrar sus respuestas.

3.3.2.5 Análisis estadísticos.

- Promedio y desviación estándar de las repeticiones para cada tratamiento.
- Test de homocedasticidad de varianzas, para verificar si se puede aplicar el análisis de varianza.
- Análisis de varianza (ANDEVA) para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos en estudio.
- Análisis alternativo para la varianza de Kruskal-Wallis (Cuando las varianzas de las muestras no son similares).
- Análisis de comparación múltiple: Test de Tukey, en el caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos y tiempos de maduración según corresponda.
- Test de concordancia (Kendall), para verificar concordancia entre panelistas en los atributos medidos

Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico STATGRAPHICS plus 5.1. El Test de concordancia, en tanto, se desarrolló mediante el uso del programa SPSS 10.1.

4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Características físicas y químicas

En el CUADRO 4 se presentan los resultados promedio con sus respectivas desviaciones estándar correspondientes a los análisis físicos y químicos de los quesos al final del período de maduración (21 días).

CUADRO 4 Características físicas y composicionales del queso Gauda al final del período de maduración (*).

Tratamientos				
Parámetro (%)	T1	T2	T3	T4
Humedad	50,23 ± 0,91 ^a	54,19 ± 1,30 ^b	50,84 ± 2,00 ^{ab}	52,86 ± 0,85 ^{ab}
HQD**	68,34 ± 1,05 ^c	65,55 ± 1,41 ^{bc}	61,19 ± 2,20 ^a	63,88 ± 0,83 ^{ab}
Materia grasa	26,50 ± 1,32 ^b	17,33 ± 0,29 ^a	16,92 ± 1,01 ^a	17,25 ± 0,43 ^a
MG/BS***	54,45 ± 2,57 ^b	38,98 ± 0,47 ^a	36,15 ± 2,20 ^a	37,78 ± 0,59 ^a
Sal (NaCl)	1,08 ± 0,05 ^a	0,88 ± 0,08 ^a	0,83 ± 0,17 ^a	0,99 ± 0,23 ^a
S/H****	2,11 ± 0,12 ^a	1,61 ± 0,17 ^a	1,60 ± 0,27 ^a	1,85 ± 0,44 ^a
pH	5,22 ± 0,04 ^a	5,38 ± 0,06 ^{ab}	5,48 ± 0,10 ^b	5,40 ± 0,09 ^{ab}

*Promedio de 3 repeticiones

** Humedad en queso desgrasado; *** Materia grasa en base seca; **** Sal en humedad

Letras distintas en cada fila indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY)

Según la Norma Chilena de queso Gauda (CHILE, INN, 1999), los resultados obtenidos para el parámetro de humedad en general son superiores a los especificados, los valores de materia grasa se ajustan a la norma, mientras que el pH se encuentra dentro del rango en el tratamiento T1 y es superior en los tratamientos T2, T3 y T4.

A continuación se presenta un análisis más profundo de cada parámetro químico y físico medido.

4.1.1 Contenido de humedad (%). La humedad es un parámetro muy importante a considerar en la maduración de los quesos. Para FOX y COGAN (2004), el contenido

de humedad junto con el porcentaje de sal y el pH son los determinantes claves de la calidad del queso. PARMENTIER y WEBER (1990) indican que el agua de la cuajada influye en los tres fenómenos que determinan la maduración del queso, es decir, las modificaciones bioquímicas (principalmente la proteólisis), biológicas (evolución de las poblaciones microbiológicas), y los fenómenos puramente físicos (evaporación en la superficie). Según SCOTT (1991), la concentración de las sustancias solubles en el agua libre de la cuajada están determinadas por la cantidad de agua, por lo que las sustancias que constituyen sustrato para las bacterias controlan su crecimiento, el cual es más intenso en las cuajadas húmedas que en las secas y por lo tanto la velocidad de maduración de los quesos más húmedos es mayor.

Además, el agua en el queso es responsable del tiempo de conservación, de la textura y del rendimiento en la elaboración. (GOMPERTZ, 2004)

CUADRO 5 Contenido de humedad (%) de queso Gauda a comienzo y fines de la maduración (*).

Tratamiento	Días de maduración		Diferencia (%)
	0	21	
T1	51,33 ^{a,B}	50,23 ^{a,A}	2.14
T2	55,52 ^{b,B}	54,19 ^{b,A}	2.40
T3	53,20 ^{ab,B}	50,84 ^{ab,A}	4.44
T4	54,33 ^{b,B}	52,86 ^{ab,A}	2.71

* Promedio de 3 repeticiones

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY)
Minúsculas: entre tratamientos, Mayúsculas: entre tiempos.

En el CUADRO 5 se presentan los resultados de humedad de los quesos en estudio para el día de inicio y de término de maduración (día 21). Al observar estos datos es posible apreciar que el contenido de humedad en el tratamiento T1 es inferior a los demás tratamientos, esto es esperable considerando que es el control sin reducción de grasa, mientras que los tratamientos T2, T3 y T4 son quesos Gauda reducidos en grasa, y al disminuir la grasa hay un aumento del contenido de humedad en los quesos (RUDAN *et al.*, 1999).

Sin embargo, al realizar el análisis estadístico de los cuatro tratamientos en estudio, se observa que en el día 0 se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), T1 es diferente a T2 y T4 que son similares, además T2, T3 y T4 conforman un grupo homogéneo al igual que T1 y T3. A medida que transcurre la maduración, específicamente en el día 21, también se observan diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$), pero esta vez T1 es diferente a T2, y existen dos grupos homogéneos, T1-T3-T4 y T2-T3-T4.

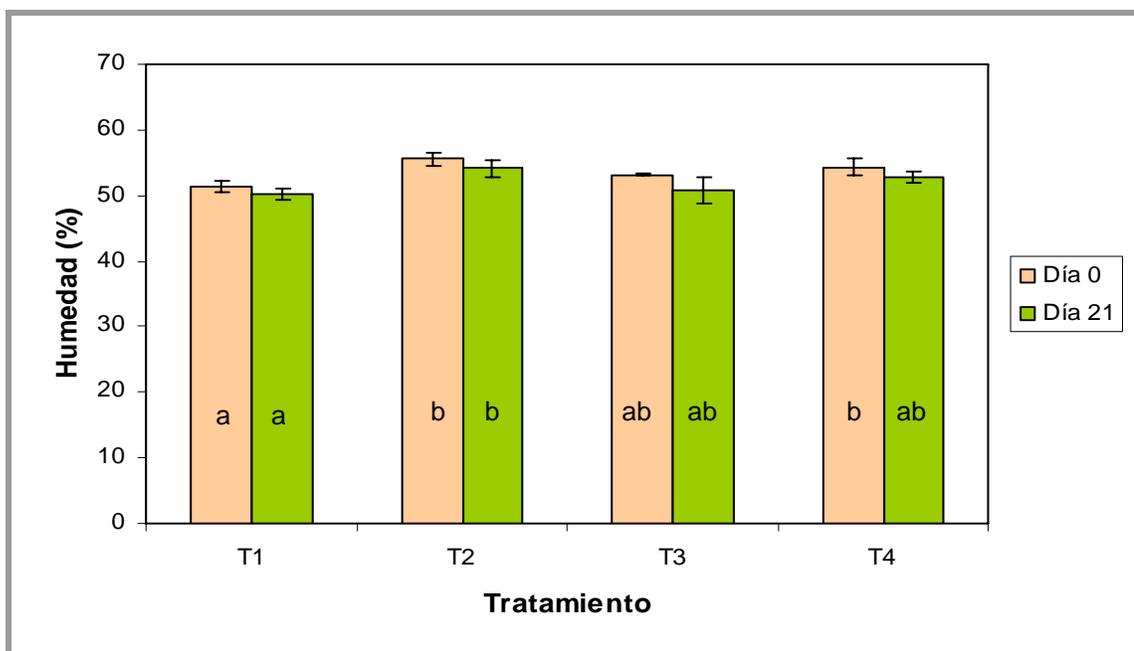


FIGURA 5 Disminución de la humedad (%) durante el periodo de maduración.

Por otro lado, en todos los tratamientos se presenta una disminución del contenido de humedad durante la maduración (CUADRO 5, FIGURA 5), lo que es considerado como un fenómeno normal en los quesos madurados en cámara. Según FAO (1986), en los quesos el contenido de humedad disminuye por evaporación en el curso de la maduración, lo que depende de la humedad inicial y del tratamiento superficial del queso, así como de la humedad relativa y la temperatura ambiental en que se madura el producto.

En una investigación realizada por NIKLITSHEK (1999), en la cual estudió queso Gouda de producción industrial, se obtuvieron valores de humedad promedio de 43,5% a los 30 días de maduración para quesos sin reducción de grasa, este contenido es muy inferior al obtenido en esta investigación para el tratamiento control (T1) y más aún para los tratamientos T2, T3 y T4, quesos de grasa reducida y mayor humedad. Por su parte, BAZAES (2004) en quesos Gauda elaborados en una industria procesadora de la Décima Región (Chiloé) reportó valores de humedad entre 41,22% a 44,47% a los 28 días de maduración.

Los contenidos de humedad de los quesos de este estudio son más cercanos a los valores indicados en la normativa vigente (CHILE, INN, 1999), que establece un rango de 46 – 48% para queso Gauda y 48 – 50% para queso Gauda semidescremado. La humedad se podría considerar en norma en el caso del tratamiento T3, pero los tratamientos T1, T2 y T4 están por sobre la norma.

Los valores altos de humedad observados desde la entrada a maduración tienen directa relación con el proceso de elaboración. La sinéresis del grano depende de muchos factores como la temperatura de cocimiento, la acidez desarrollada por el cultivo láctico, la velocidad de agitación y el desuerado (FOX y COGAN, 2004).

En el CUADRO 5 se presenta la pérdida de humedad durante la maduración. El porcentaje de reducción promedio fluctúa en el rango de 2,14 a 4,44 %, observándose este último valor como extremo con respecto a los demás. Los porcentajes de reducción de humedad son inferiores a los reportados por Zalazar **et al.** (1983) citado por BRITO **et al.** (1995) los cuales trabajaron en queso Pategrás argentino (tipo Gouda) donde la reducción de humedad fue de 9,7% a los 22 días de maduración a 15°C. También por debajo de lo señalado en un estudio de maduración de queso Chanco, donde se indicó una reducción de humedad promedio a los 28 días de maduración para un queso de reducida grasa de 4,38 %, y en quesos de reducida grasa con incorporación de suero en polvo a diferentes niveles y uso de cultivo adjunto, donde la pérdida de humedad fluctuó entre 7,72 % y 11,96% (BRITO **et al.**, 1995). Estas diferencias son atribuidas al hecho de que el queso Gauda es un queso protegido en su exterior, es decir, envasado al vacío, lo que disminuye considerablemente la evaporación, a diferencia del queso Chanco que posee cáscara por lo cual hay mayor intercambio de humedad.

La humedad en queso desgrasado (HQD) tiene mayor relación con la consistencia del queso que la que tiene, por sí solo, el factor humedad en base total. Esto se debe a que en el queso son las proteínas las que retienen el agua y no la materia grasa (FAO, 1986). En el CUADRO 4 se presentan los porcentajes de HQD, donde se observa que el tratamiento T1 es estadísticamente diferente a T3 y T4, y la existencia, además, de tres grupos homogéneos, T1-T2, T2-T4 y T3-T4. Además, es posible notar que al disminuir el contenido de materia grasa, la HQD disminuye, lo que se encuentra en concordancia con lo señalado por BANKS (2004).

La literatura señala que para obtener propiedades organolépticas óptimas en quesos con reducción de grasa, la HQD debe ser igual o levemente superior que la de quesos con toda la grasa (JAMESON, 1990; Ardö (1997) citado por LIZAMA, 2004). Como se observa en el CUADRO 4, tal situación no se dio en esta investigación.

4.1.2 Contenido de materia grasa. Los valores promedio de la materia grasa para cada uno de los tratamientos estudiados se presentan en el CUADRO 6 y se grafican en la FIGURA 6.

Al analizar estadísticamente los valores, se tiene que el tratamiento T1 es estadísticamente diferente ($p < 0.05$) a los tratamientos T2, T3 y T4, encontrándose éstos últimos dentro de un grupo homogéneo. Este comportamiento es lógico considerando que el tratamiento T1 es el queso Gauda "control" mientras que los otros tratamientos corresponden a quesos reducidos en grasa elaborados con leche estandarizada al 1.6% de materia grasa con el fin específico de disminuir su contenido en aproximadamente un 35%.

El contenido de grasa alcanzado en este estudio se ajusta a lo establecido en la Norma Chilena (CHILE, INN, 1999) para queso Gauda (T1) y queso Gauda semidescremado (T2, T3 y T4). Además estos resultados en el tratamiento control Gauda típico, se acercan a lo indicado por BRITO (1995) quien señala un contenido de materia grasa para el queso Gouda de 27% al final del período de maduración, paralelamente a NIKLITSCHKEK (1999), quien obtuvo valores promedio de 29,8% de materia grasa en su estudio de queso Gouda industrial a los 30 días de maduración.

CUADRO 6 Contenido de Materia grasa (%) y MG/BS (%) al final de la maduración de queso Gauda (*).

Tratamiento	Materia grasa (%)	MG/BS (%)**
T1	26,50 ^b	54,45 ^b
T2	17,33 ^a	38,98 ^a
T3	16,92 ^a	36,15 ^a
T4	17,25 ^a	37,78 ^a

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY)

*Materia grasa en base seca

**Promedio de 3 repeticiones

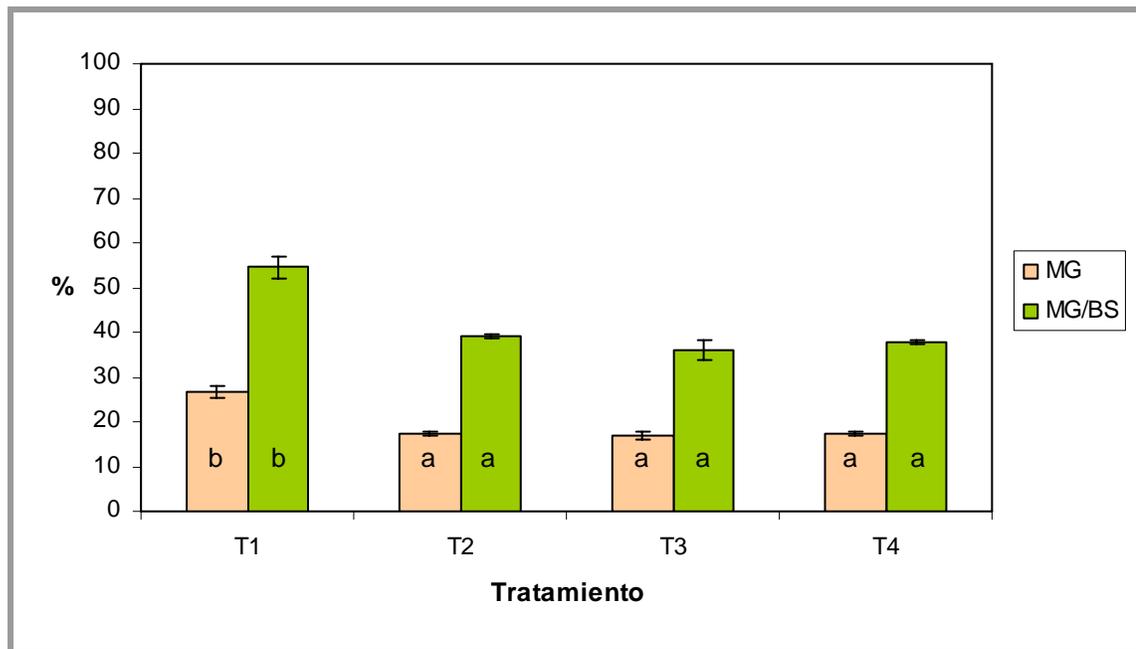


FIGURA 6 Contenido de materia grasa (MG) (%) y materia grasa en base seca (MG/BS) (%) de queso Gauda.

Según RUDAN *et al.*, (1999), la grasa contribuye al sabor, textura, funcionalidad y apariencia de los quesos, por lo que al disminuir el contenido de grasa, disminuye la calidad general del queso. En este sentido, FOX (2002) señala que la lipólisis es limitada en la mayoría de las variedades, exceptuando algunas variedades Italianas y los quesos Azules, sin embargo, las reacciones lipolíticas son importantes en el aroma y sabor del queso por la liberación de ácidos grasos y otros compuestos lipídicos.

Cabe destacar que la materia grasa tiene una cifra de transición, en la transformación de leche a queso, de 90% lo que significa que el 90% de la materia grasa pasa al queso y 10% queda en el suero (FAO, 1986).

El cálculo del porcentaje de materia grasa en la materia seca (MG/BS) es importante ya que como el queso pierde humedad constantemente, la expresión del contenido de sólidos y grasa aumenta, en cambio la relación grasa/sólidos permanece constante e invariable (FAO, 1986; BRITO *et al.*, 1995), por esta razón las normas nacionales e internacionales de quesos expresan el contenido de grasa como MG/BS (FAO, 1986). En el CUADRO 6 se presenta el contenido de materia grasa expresado como MG/BS.

Los resultados de esta investigación concuerdan con una investigación donde se estudió el efecto de la reducción de grasa en varias propiedades del queso Mozzarella, el que concluye que al reducir el contenido de grasa, aumenta el contenido de humedad y, a la vez, el pH y la sal no se ven afectadas por esta reducción (RUDAN *et al.*, 1999).

4.1.3 Contenido de sal (NaCl). En el CUADRO 7 se presentan los contenidos promedio de sal (% NaCl) y sal en humedad (S/H) los cuales se representan en la FIGURA 7.

CUADRO 7 Contenido de sal y S/H al final de la maduración de queso Gauda (21 días) (*).

Tratamiento	Sal (% NaCl)	S/H (%)
T1	1,08 ^a	2,11 ^a
T2	0,88 ^a	1,61 ^a
T3	0,83 ^a	1,60 ^a
T4	0,99 ^a	1,85 ^a

* Promedio de 3 repeticiones

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY)

Del análisis estadístico de los contenidos de sal y S/H se desprende que no existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos, encontrándose valores promedio en un rango de 0,83% hasta 1,08% en el tratamiento T3 y T1, respectivamente (CUADRO 7, FIGURA 7). Estos valores son bajos con respecto a lo que señalan diferentes investigadores. Aunque la legislación chilena no establece en la composición del queso Gauda el contenido de sal (CHILE, INN, 1999), BINTSIS (2006), indica que el contenido de sal en queso Gouda varía entre 1,5 a 2%, mientras que SUTHERLAND (2002) indica para este queso entre 1,1-1,4 % de sal. En una investigación acerca de la calidad química y sensorial de queso Gauda en una industria de la Décima región se obtuvieron valores promedio de sal entre 1,06 a 1,39 % NaCl

(BAZAES, 2004). Por su parte, NIKLITSCHKEK (1999) obtuvo valores promedio de contenido de sal de 1,79% a los 30 días de maduración.

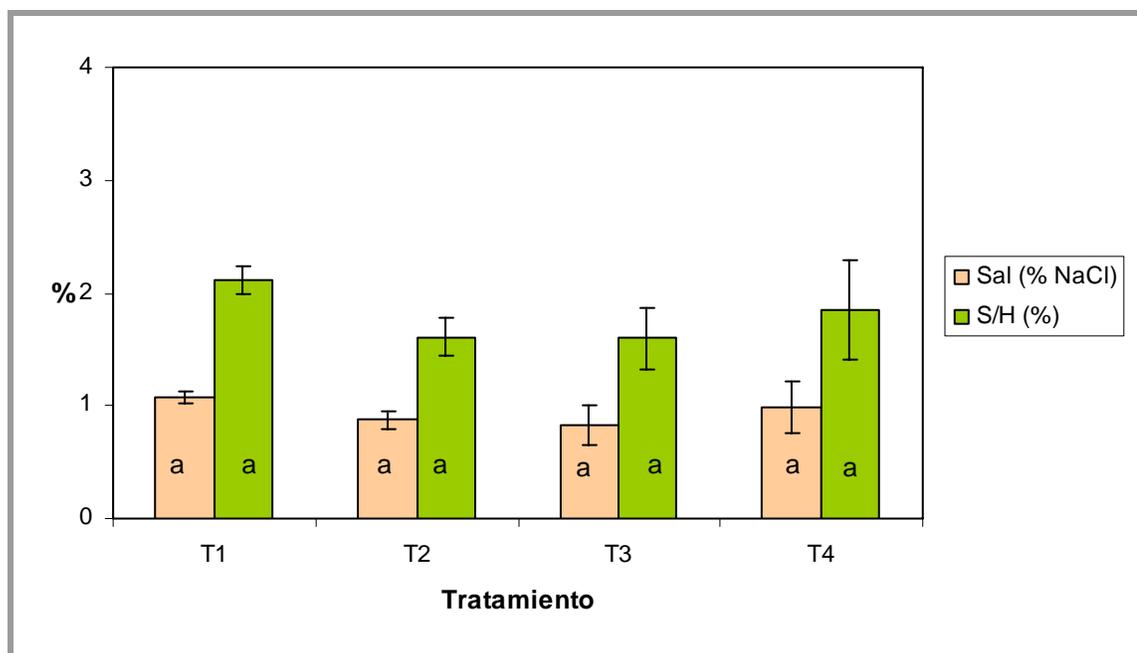


FIGURA 7 Contenido de Sal (%) y S/H (%) de queso Gauda al final de la maduración.

El salado tiene una variedad de funciones en la maduración del queso, tales como afectar el crecimiento y sobrevivencia de bacterias y enzimas de la leche, cuajo, cultivos iniciadores y microflora secundaria; lo que ocurre al reducir la actividad de agua (a_w) por la concentración de sal en la fase hídrica, con lo que se puede producir un retraso en la maduración por exceso de sal. Además, promueve la sinéresis de la cuajada expulsando suero por la fuerte presión osmótica de la salmuera que provoca modificaciones en el agua ligada y por lo tanto reduciendo el contenido de humedad; causa cambios físicos en las proteínas que afectan la textura del queso y la solubilidad de las proteínas; tiene un efecto positivo en el sabor y contribuye a la ingesta dietaria de sodio (Na^+) (ALAIS, 1985; BINTSIS, 2006). Por lo tanto, la concentración de sal en el queso puede influir sobre muchos de los procesos químicos, bioquímicos y microbiológicos que ocurren durante la maduración, resultado de lo cual, el producto se preserva y desarrolla las características sensoriales típicas de la variedad (BINTSIS, 2006).

Los factores que afectan la cantidad de sal absorbida por un queso son la concentración de la salmuera, el tiempo de salado, la temperatura de la cuajada y de la salmuera, la geometría del queso, el contenido de humedad inicial de la cuajada y el pH del queso y de la salmuera (SUTHERLAND, 2002; GUINEE, 2004).

Un nivel bajo de sal en el interior de los quesos salados en salmuera, puede permitir que continúe la fermentación por parte de los organismos iniciadores de prácticamente

toda la lactosa, transformándose a ácido láctico y sus productos finales asociados, dejando pocos carbohidratos fermentables para el crecimiento de BALNS (bacterias lácticas no iniciadoras), lo que resulta en un curso diferente de la maduración y un perfil de sabores diferente.

FAO (1986) señala que las bacterias lácticas por lo general resisten solo concentraciones de 1 a 2 % de sal, mientras que las bacterias coliformes resisten concentraciones de hasta 6%. Con respecto a las enzimas, este autor señala que ellas se activan con el porcentaje normal de sal que hay en los quesos.

El impacto de la sal en el queso depende de la concentración en la humedad del producto, o sea, su concentración en solución, o “sal-en-humedad” (S/H); este es un fuerte determinante de muchos de los cambios microbiológicos y químicos que ocurren durante la maduración (BINTSIS, 2006). Igualmente, FARKYE (2004) indica que al expresar el contenido de sal como sal en humedad (S/H), se controla cuanta actividad de las bacterias lácticas (iniciadoras) continúa después del salado, ya que concentraciones cercanas al 6% (S/H) se inhibe la actividad de muchas bacterias. Las concentraciones de S/H obtenidas en la presente investigación se encuentran por debajo de este valor, por lo que es posible asumir que la bacteria probiótica agregada no se vio afectada en su actividad por este parámetro (CUADRO 6).

4.1.4 pH. Los valores de pH obtenidos al inicio y a los 21 días de maduración se presentan en el CUADRO 8.

CUADRO 8 Valores de pH al inicio y final de la maduración de queso Gauda (*).

Tratamiento	Días de maduración	
	0	21
T1	5,27 ^{a,A}	5,22 ^{a,A}
T2	5,20 ^{a,A}	5,38 ^{ab,A}
T3	5,39 ^{a,A}	5,48 ^{b,A}
T4	5,38 ^{a,A}	5,40 ^{ab,A}

* Promedio de 3 repeticiones

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY)
Minúsculas: entre tratamientos, Mayúsculas: entre tiempos.

Para CHAMPAGNE y GARDNER (2005), el pH es un factor crítico en la estabilidad de las bacterias probióticas de un producto lácteo durante su almacenamiento. Estos autores mencionan que en la mayoría de los quesos el pH aumenta durante la maduración, por lo que, desde el punto de vista del pH, el queso puede ser un mejor vehículo para un cultivo probiótico que el yogurt donde generalmente ocurre una post-acidificación durante el almacenamiento que es perjudicial para dichas bacterias.

El pH y la temperatura son los parámetros más importantes con respecto a la acción de las enzimas en la cuajada durante la maduración (SCOTT, 1991). El pH del queso afecta la velocidad de acción de varias enzimas envueltas en el proceso de proteólisis (KELLY *et al.*, 1996). BRITO *et al.* (1995) concuerdan con dichos autores y agregan que valores elevados de pH aumentan la actividad de los microorganismos y enzimas, en cambio a pH inferiores a 5 se reduce la velocidad de degradación, por lo que los quesos más ácidos maduran más lentamente.

La FIGURA 8 muestra la tendencia al incremento del pH ocurrida durante la maduración en los tratamientos T2 y T3. El pH aumenta durante la maduración debido a la degradación de las proteínas, liberándose amoníaco, aminoácidos y aminos básicas y por la degradación del lactato, la sal del ácido láctico (ALAIS, 1985; FAO, 1986). En T4 este incremento no es tan evidente y en T1 no ocurre. Considerando la gran variabilidad entre las mediciones, reflejada en las desviaciones estándar, es probable que esta situación se deba a un problema metodológico o instrumental durante la medición de éste parámetro (por ejemplo, calibración incorrecta del equipo).

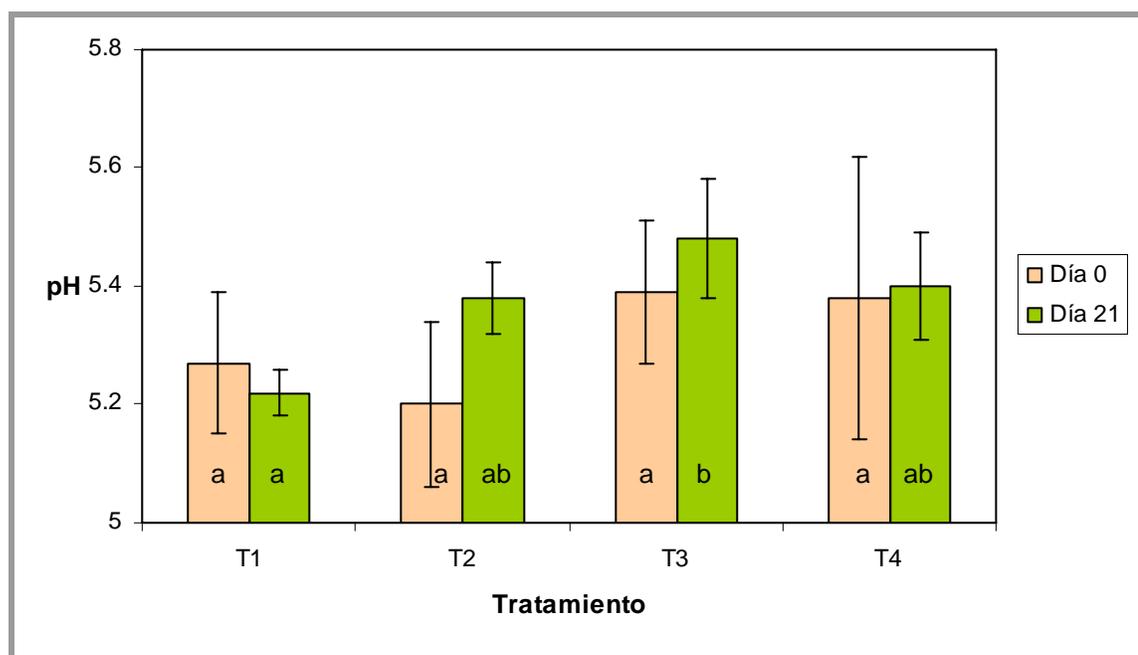


FIGURA 8 Comportamiento del pH, por tratamiento, a inicio y fines de maduración del queso Gauda.

Al analizar estadísticamente los valores de pH no se observan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los cuatro tratamientos en estudio al primer día de maduración (día 0). Luego, al final de la maduración (día 21), los valores de pH difieren entre los tratamientos ($p < 0.05$), T1 es diferente a T3, y existen dos grupos homogéneos, T1-T2-T4 y T2-T3-T4 (CUADRO 5). Tomando en cuenta estos resultados, las diferencias encontradas no pueden ser atribuidas a la presencia del cultivo probiótico adjunto, ya que éste fue aplicado en los tratamientos T3 y T4 y esos dos tratamientos no se diferencian de los demás. Lo anterior concuerda con diversos autores que en sus

estudios de incorporación de bacterias probióticas, en diferentes tipos de queso, no reportaron influencia de esta variable en el pH de los quesos. (DAIGLE *et al.*, 1999; LYNCH *et al.*, 1999). Sin embargo, KALAVROUZIOTI *et al.* (2005), encontraron que el uso de cultivos probióticos *L. rhamnosus* o *L. paracasei* en queso tipo Kefalotyri (queso duro elaborado con leche de cabra) disminuye el pH en la primera etapa de maduración (cuarto día), posteriormente, éste aumenta al nivel típico de la variedad.

4.2 Evolución de la proteólisis

Los resultados del desarrollo de la proteólisis ocurrida en los quesos, al primer día y a los 21 días de maduración se presentan en el CUADRO 9.

CUADRO 9 Contenido de tirosina soluble en TCA 12% (mg/g) al inicio y final de la maduración (*).

Tratamiento	Día 0 (Prom. - Desv.estándar)	Día 21 (Prom.-Desv.estándar)	Diferencia (mg/g)
T1	0,154 ± 0,04 ^{a,A}	0,351 ± 0,04 ^{a,B}	0.197
T2	0,179 ± 0,06 ^{a,A}	0,428 ± 0,02 ^{a,B}	0.239
T3	0,248 ± 0,04 ^{a,A}	0,449 ± 0,07 ^{a,B}	0.201
T4	0,236 ± 0,03 ^{a,A}	0,436 ± 0,11 ^{a,B}	0.200

*Promedio de 3 repeticiones

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY). Minúsculas: entre tratamientos, Mayúsculas: entre tiempos.

El contenido de tirosina soluble en ácido tricloroacético, es un parámetro utilizado para estimar la extensión de la proteólisis, y se ha reportado una alta correlación entre tal parámetro y el contenido de nitrógeno soluble en el queso (Vakaleris *et al.* citado por BRITO, 1993)

Al analizar estadísticamente los datos presentados se observa que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los 4 tratamientos al día 0 ni al día 21 de maduración, y el desarrollo de la proteólisis es similar en todos los tratamientos durante la maduración, evidenciado por la diferencia de tirosina soluble entre el día 21 y el día de entrada (CUADRO 9).

Al respecto, TUNGJAROENCHAI *et al.* (2001), estudiando la maduración de queso Edam reducido en grasa, obtuvieron mayores tasas de proteólisis en los quesos reducidos en grasa que en el control de grasa normal. De igual forma, RUDAN *et al.*, (1999) indica que la proteólisis se incrementa al reducir el contenido de grasa. A pesar de que no existen diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los 4 tratamientos, en la gráfica de la FIGURA 9 se aprecia que el tratamiento T1 (control, sin reducción de grasa) presenta el menor contenido de tirosina soluble en el día 0.

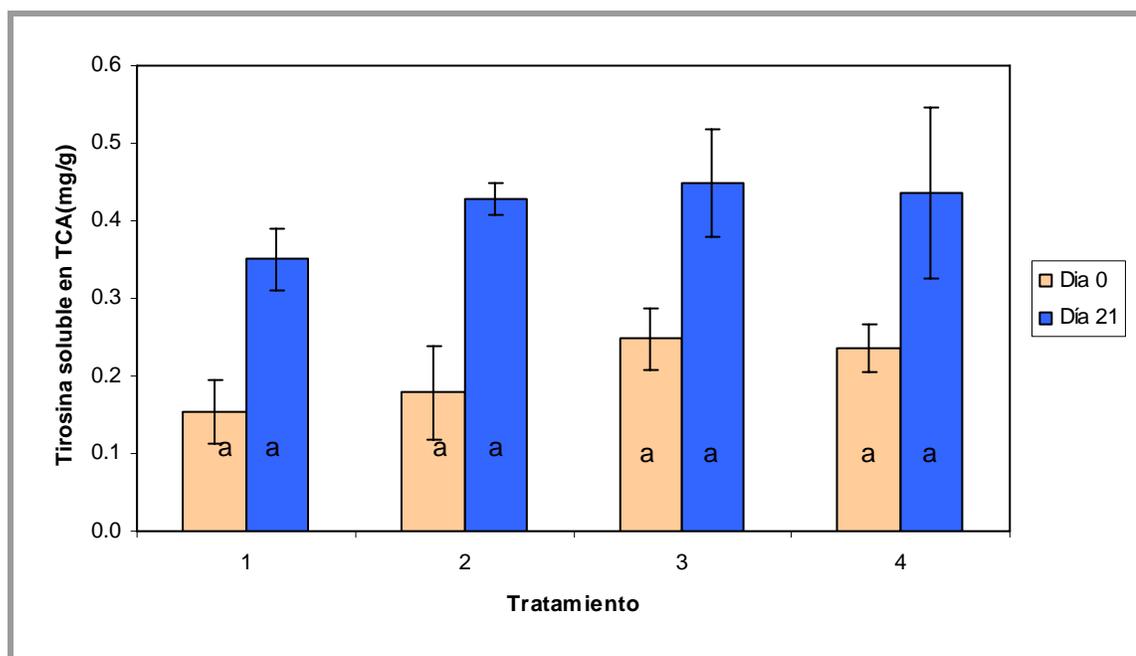


FIGURA 9 Proteólisis, expresada como tirosina soluble en TCA (12%), en los quesos al inicio y final de la maduración.

En relación al uso de cultivos probióticos, existe consenso entre autores como DINAKAR y MISTRY (1994) quienes no obtuvieron diferencias estadísticas en el contenido de proteína soluble ni en la proteólisis medida por electroforesis SDS-PAGE entre quesos Cheddar con y sin adición de bifidobacteria, al igual que DAIGLE *et al.* (1999) quienes trabajaron en el mismo tipo de queso también con bifidobacterias. Otros autores señalan que la proteólisis primaria, es decir, la hidrólisis de las caseínas, no es afectada por el cultivo probiótico, ya que en esta etapa la proteólisis se debe a la acción de la quimosina y la plasmina y no a la microflora presente en el queso, no obstante, a nivel de aminoácidos libres la actividad enzimática de los cultivos influye en la proteólisis, encontrándose altos niveles en quesos con probiótico adjunto debido a la liberación de peptidasas intracelulares cuando los organismos mueren y se lisan (GARDINER *et al.*, 1998; LYNCH *et al.*, 1999). Con respecto a lo anterior, es importante destacar que la actividad proteolítica de las bacterias probióticas adjuntas depende de la especie y cepa usada, las cuales exhiben propiedades únicas en relación a su actividad enzimática.

Los cultivos probióticos adjuntos en este queso se encuentran dentro de la categoría de las BALNS, los sistemas proteolíticos de éstas son generalmente similares a los de otras bacterias ácido lácticas, por lo que éstas parecen contribuir a la proteólisis de una manera similar que el cultivo iniciador (MCSWEENEY, 2004a). LYNCH *et al.* (1999) agregan que la contribución del cultivo adjunto *L. paracasei* es relativamente menor que la del cultivo iniciador en la proteólisis de queso Cheddar. Los lactobacilos mesófilos poseen un aceptor keto-ácido que facilita la vía degradativa mediada por la aminotransferasa con lo que pueden catabolizar péptidos y aminoácidos, lo que se manifiesta más en los quesos de larga maduración (BANKS y WILLIAMS, 2004).

Al realizar el análisis estadístico desde el punto de vista de los tiempos de maduración se obtuvo que entre el día 0 y el día 21 existen diferencias estadísticas significativas, resultado esperable dados los procesos bioquímicos típicos de maduración.

Los resultados obtenidos en esta investigación se encuentran en un rango similar a lo obtenido por SALAZAR (2005), quien en su estudio de maduración de queso Chanco de reducido contenido graso con incorporación de suero en polvo obtuvo al día 28 de maduración valores entre 0,346 y 0,414 mg tirosina /g. También BRITO *et al.* (1996) reportaron valores similares de tirosina soluble en un trabajo con queso Chanco almacenado a diferentes temperaturas. Estos mismos autores señalan que estos niveles son bajos comparados con los presentados en otros tipos de queso como Manchego donde se tuvo valores de 0,55 a 1,56 mg/g de tirosina soluble, Cheddar con 1,5 mg /g a los 2 meses y algunos quesos españoles que muestran valores de 2,5 a 4 mg/g de tirosina, debido a que estas variedades tienen períodos de maduración bastante más largos que el Gauda.

4.3 Viabilidad de *L.paracasei* subsp.*paracasei* a través de la maduración del queso

Los resultados de los recuentos de la bacteria probiótica *L.paracasei* subsp. *paracasei* son presentados en el CUADRO 10. Además, en la FIGURA 10 es posible observar la morfología y color de las colonias de la bacteria en placas petri con agar MRS-IM donde las colonias de color anaranjado corresponden a *L.paracasei* y las blancas al cultivo iniciador (cultivo mixto).

CUADRO 10 Recuento de *L.paracasei* subsp. *paracasei* (log ufc/g) durante la maduración del queso (*).

Día de maduración	T3	T4
0	8,69 ± 0,40 ^a	8,04 ± 0,06 ^a
14	8,01 ± 1,11 ^a	7,95 ± 0,06 ^a
21	8,72 ± 0,35 ^a	7,59 ± 0,54 ^a
28	8,25 ± 0,29 ^a	7,60 ± 0,31 ^a
35	8,46 ± 0,28 ^a	7,87 ± 0,15 ^a

* Promedio de 3 repeticiones.

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (TUKEY).

Para seleccionar el medio de cultivo apropiado respecto a la identificación y recuento de la bacteria probiótica, se llevó a cabo un trabajo previo donde se probaron 3 diferentes medios de cultivo, agar MRS (de Man Rogosa Sharpe), MRS-IM (MRS modificado en algunos componentes) y MRS -IM con glucosa. *Lactobacillus paracasei* fue inoculado en leche en polvo descremada reconstituída, sólo y en mezcla con el cultivo *starter*, luego se hicieron las diluciones necesarias y se sembraron placas con

los medios de cultivo mencionados. El reconocimiento de las colonias típicas se hizo por observación directa y se corroboró con observación al microscopio de aislados de las colonias. De lo anterior se concluyó que el medio de cultivo que permite diferenciar de mejor forma las colonias de *L. paracasei* y del cultivo *starter* es el agar MRS-IM y por lo tanto este fue el medio de cultivo utilizado en la investigación. Los resultados de esos recuentos en placa fueron confirmados por observación al microscopio de aislados de las colonias (Tinción de Gram).

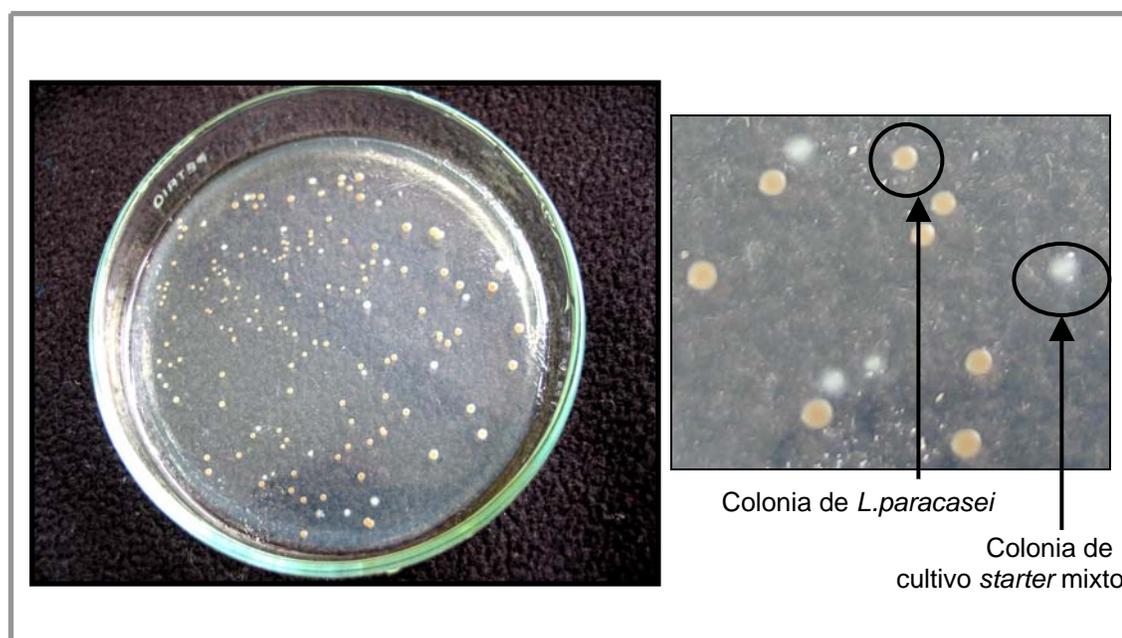


FIGURA 10 Fotografías de las placas de agar MRS-IM con las colonias de *L.paracasei* subsp. *paracasei*

Como se observa en el CUADRO 10 y en la FIGURA 11, los recuentos se mantuvieron en niveles relativamente estables en ambos tratamientos, de hecho no se presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los diferentes tiempos de maduración ni entre los tratamientos, aunque el tratamiento T4 a lo largo de la maduración tuvo un recuento del orden de 10^7 ufc/g, alrededor de un ciclo logarítmico por debajo de T3, que siempre se mantuvo en 10^8 ufc/g, que corresponde al inóculo inicial. Este comportamiento puede ser relacionado con la elaboración propiamente tal, ya que en el tratamiento T3 el cultivo probiótico fue incorporado junto con el cultivo *starter*, en una etapa temprana de la elaboración (ANEXO 9), bajo condiciones favorables de acidez y temperatura (18°Th , 32°C , aprox.) en las que se mantuvo alrededor de 90 minutos, por lo que el microorganismo tuvo la oportunidad de adaptarse a las condiciones y posteriores etapas de la elaboración, mientras que en el caso de T4, el probiótico fue agregado en la etapa del cocimiento de la cuajada, casi al final del proceso, donde la acidez y la temperatura son menos favorables para su desarrollo en la cuajada (11°Th , $38,5^\circ\text{C}$, 80 minutos aprox.). En la FIGURA 11 se observa que la desviación estándar del recuento microbiano de T3 en el día 14 es elevada. Esta variabilidad puede explicarse por las

condiciones de elaboración (quesos elaborados en días diferentes, con leche diferente).

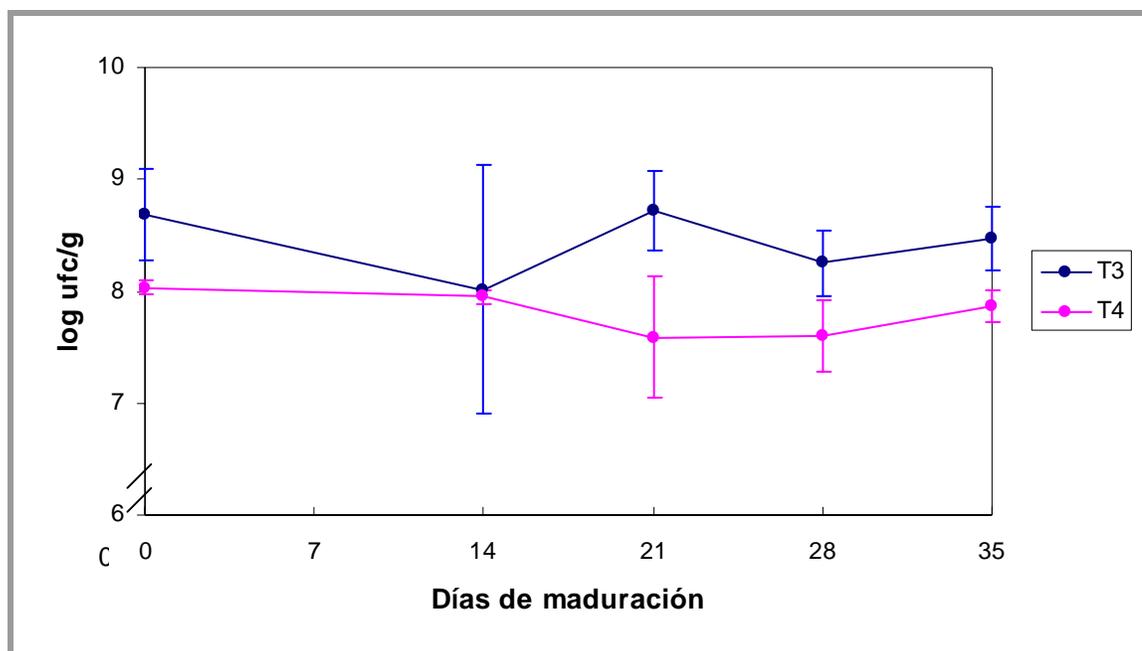


FIGURA 11 Viabilidad de *L. paracasei* subsp. *paracasei* a través de la maduración del queso.

Respecto a la sobrevivencia de las bacterias probióticas, KASIMOĞLU *et al.* (2004), señalan que el alto contenido de humedad y bajo contenido de sal en el centro del queso permite esta sobrevivencia los primeros 7 días. Luego la bacteria se estabiliza en el queso durante la maduración por la alta capacidad tampón de la matriz, relativamente alto contenido de grasa y lo compacto de la red proteica (HELLER, 2001).

Además, la composición química de la cuajada es de gran importancia para el metabolismo de los microorganismos durante la maduración, y a pesar de que no hay gran cantidad de carbohidratos, y la lactosa es consumida rápidamente los primeros días de maduración, estos microorganismos adjuntos pueden usar azúcares liberados por hidrólisis enzimáticas de la k-caseína, además de glicoproteínas de la membrana del glóbulo graso (BANKS y WILLIAMS, 2004; SONGISEPP *et al.*, 2004). Otra fuente potencial de energía en la maduración son los metabolitos de estas bacterias generados por la hidrólisis de las proteínas y lípidos, de donde obtienen aminoácidos esenciales y ácidos grasos de cadena corta. También pueden utilizar como fuente de energía la arginina, generada por la degradación de la caseína, se ha demostrado que el 45% de las cepas de *L. paracasei* subsp. *paracasei* tienen la capacidad de usarla (BANKS y WILLIAMS, 2004).

DE VUYST (2000) establece que el número mínimo de ufc (unidades formadoras de colonias) por gramo debe ser 10^7 ufc/g para que un producto probiótico sea considerado funcional, por lo que los quesos de ambos tratamientos (T3 y T4) caben dentro de esta categoría.

Resultados similares a los obtenidos en este estudio fueron reportados por KALAVROUZIOI *et al.* (2005), quienes a los 3 meses de maduración de un queso duro con *L. paracasei*, como adjunto, obtuvieron recuentos del orden de 10^7 ufc/g. De igual forma, LYNCH *et al.* (1999) incorporaron los cultivos *L. paracasei* y *L. plantarum* en queso Cheddar y obtuvieron valores máximos de 10^8 ufc/g a los 2 meses de maduración, después de lo cual los valores comenzaron a disminuir hasta llegar a aproximadamente 10^6 ufc/g a los 6 meses. GARDINER *et al.* (1998) también incorporaron cepas de *L. paracasei* de origen humano en queso Cheddar y a los 8 meses obtuvieron recuentos del orden de 10^7 ufc/g.

Adicionalmente varios investigadores han logrado introducir, con éxito, otras especies de bacterias probióticas a diferentes variedades de queso, logrando diferentes tiempos de viabilidad en las bacterias, como bifidobacterias en Cheddar, Cottage y Crescenza (DINAKAR y MISTRY (1994), BLANCHETTE *et al.* (1996), GOBETTI *et al.* (1998), DAIGLE *et al.* (1999)). *L. acidophilus* ha sido usado en queso Blanco, logrando un número superior a 10^7 ufc/g en el producto madurado, y una calidad organoléptica adecuada en su formato envasado al vacío (KASIMOĞLU *et al.*, 2004). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* se ha adicionado a queso artesanal de leche de cabra, con niveles superiores a 10^8 ufc/g durante su maduración (FERNANDEZ *et al.*, 2005) y *Lactobacillus fermentum* en un queso semejante al “Pikantne”, originario de Estonia, proporciona a este queso propiedades antioxidantes y antimicrobianas (SONGISEPP *et al.*, 2004).

Cabe destacar que el número de organismos viables presentes durante la maduración depende de las condiciones de elaboración, como por ejemplo la cantidad de inóculo utilizado y la etapa del proceso en que se adiciona (CHAMPAGNE y GARDNER, 2005).

4.4 Análisis sensorial del queso

El sabor y la textura son fenómenos multidimensionales que resultan de las complejas interacciones entre el método de elaboración, composición gruesa y volátil del queso (BEN LAWLOR *et al.*, 2001).

Para el análisis sensorial de los quesos se utilizó una prueba descriptiva global utilizando una pauta de 7 puntos para los atributos sabor, textura y apreciación general. La cartilla diseñada para registrar las opiniones de los panelistas se presenta en el ANEXO 1.

En el CUADRO 11 se presenta un resumen de los resultados de la evaluación sensorial para los parámetros señalados medidos a los 21 días de maduración.

CUADRO 11 Calificaciones otorgadas por los panelistas al sabor, textura y apreciación general de los quesos (*).

TRATAMIENTO	SABOR	PERFIL DE TEXTURA				APRECIACIÓN GENERAL
		FIRMEZA	ELASTICIDAD	ADHESIVIDAD	COHESIVIDAD	
T1	4,96 ± 0,52 ^a	2,79 ± 0,19 ^a	3,54 ± 1,79 ^a	4,96 ± 1,00	5,29 ± 0,48 ^b	5,08 ± 0,76 ^a
T2	4,04 ± 0,75 ^a	4,67 ± 0,50 ^b	4,67 ± 0,81 ^a	3,67 ± 1,23	3,67 ± 0,90 ^{ab}	4,75 ± 0,75 ^a
T3	3,38 ± 0,55 ^a	4,50 ± 0,33 ^b	4,71 ± 0,26 ^a	2,84 ± 0,57	3,13 ± 0,76 ^a	5,00 ± 0,22 ^a
T4	3,88 ± 0,58 ^a	5,09 ± 1,02 ^b	4,71 ± 0,44 ^a	3,05 ± 0,58	3,34 ± 0,59 ^a	4,75 ± 0,57 ^a

* Promedio de 3 repeticiones

Letras distintas en cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos, al 5% (Tukey)

SABOR, 1: no desarrollado; 4: normal; 7: demasiado intenso. FIRMEZA, 1: muy blando; 4: normal; 7: muy firme. ELASTICIDAD, 1: poco elástico; 4: elástico; 7: muy elástico. ADHESIVIDAD, 1: poco adhesivo; 4: adhesivo; 7: muy adhesivo. COHESIVIDAD, 1: quebradizo; 4: normal; 7: muy cohesivo. APRECIACIÓN GENERAL, 1: muy malo; 4: regular; 7: muy bueno.

4.4.1 Sabor. Las calificaciones otorgadas por los panelistas para el atributo sabor se muestran en el CUADRO 11 y se representan en la FIGURA 12.

Al analizar estadísticamente los datos se tiene que no hay diferencia significativa entre los cuatro tratamientos ($p > 0.05$). Sin embargo, los tratamientos T2, T3 y T4 se encuentran cercanos al valor 4, y el tratamiento T1, que corresponde al queso control, tiene un valor de 4,96, es decir, 5 (sabor ligeramente intenso), por lo que se puede afirmar que los tratamientos son similares al control, pero no iguales.

Respecto a la disminución de la materia grasa y su efecto en el sabor del queso, BRITO *et al.* (2003), encontraron que quesos Chanco bajos en grasa elaborados con leche homogenizada presentan menor desarrollo del sabor que el queso testigo sin reducción de la materia grasa. Similarmente, pero usando un método de comparación múltiple, en queso Chanco elaborado con leche homogenizada e incorporación de cultivo adjunto, se presenta una diferencia moderada en el sabor del queso de grasa completa y los tratamientos reducidos en grasa (BRITO *et al.*, 2006).

Lo anterior se explica porque el contenido de grasa tiene un rol importante en la forma como el sabor es percibido ya que al producirse la lipólisis se liberan ácidos grasos y sus catabolitos los que actúan como fuentes del sabor y además la grasa disuelve y absorbe la mayoría de los compuestos orgánicos de sabor, influenciando su liberación durante el consumo (JAMESON, 1990). Por otro lado al modificar la estructura física del queso por la reducción del contenido de materia grasa se pueden inhibir ciertas reacciones enzimáticas esenciales para el desarrollo del sabor (BEN LAWLOR *et al.*, 2001; BANKS, 2004; BRITO *et al.*, 2006).

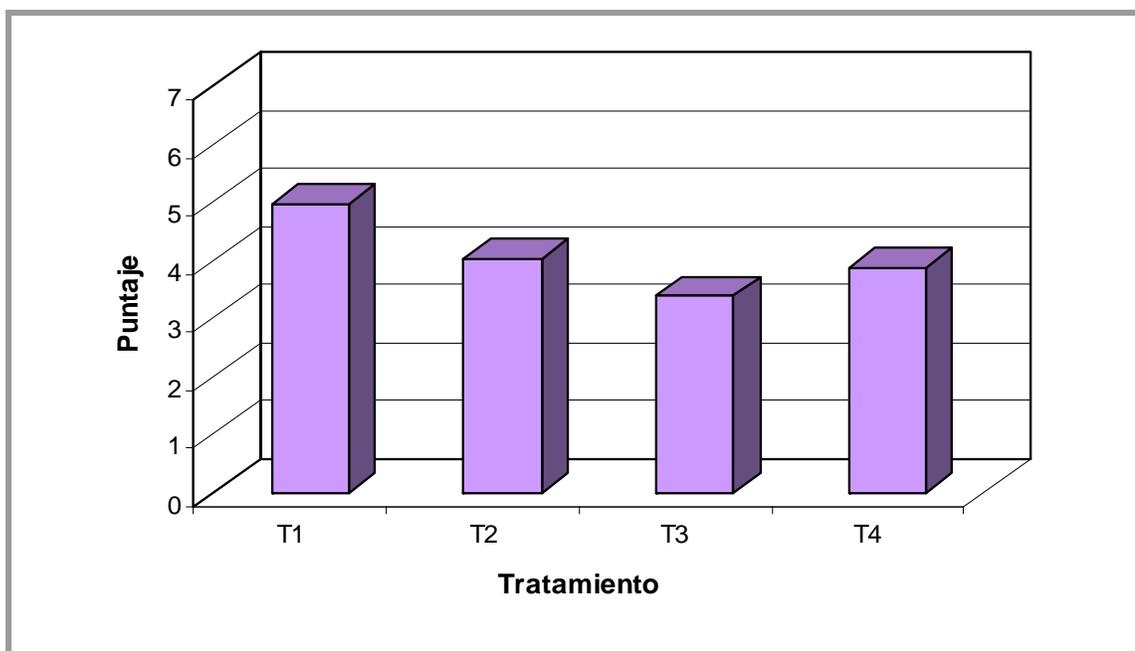


FIGURA 12 Calificaciones promedio para el atributo ‘Sabor’ otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración (1: no desarrollado; 4: normal; 7: demasiado intenso).

En relación a lo anterior, varios investigadores han encontrado deficiencias en ácidos grasos volátiles como butanoico y hexanoico en queso Cheddar bajo y reducido en grasa (Banks *et al.* (1989) y Dimos *et al.* (1996) citados por BANKS, 2004), y este último autor sugirió que en queso Cheddar reducido en grasa la pérdida de sabor está relacionada con la baja concentración de metanotiol presente en este queso.

Además la alteración del balance entre grasa, proteína y agua en el queso puede llevar a deficiencias no solo en los compuestos derivados de la grasa sino también en compuestos generados por la interacción de los productos de degradación lipídica y proteica (BANKS, 2004).

Es importante señalar que la formación del sabor no sólo se debe a la degradación de los lípidos, sino que se debe a las conversiones de los compuestos de la leche, donde las reacciones bioquímicas principales involucran la degradación de la lactosa, de los lípidos y las proteínas, generando compuestos sápidos y aromáticos que proporcionan al queso el sabor típico de cada variedad (SMIT *et al.*, 2002).

Para JOHNSON (2002), los quesos con reducción de 1/3 de la materia grasa son comparables en sabor a sus análogos con toda la grasa, pero si se reduce mayor cantidad, disminuye la calidad e intensidad de sabor. En la presente investigación la reducción de grasa fue de aproximadamente 1/3, (35%) en los tratamientos T2, T3 y T4 con respecto al tratamiento T1, a lo que se puede atribuir el hecho de que no hay diferencia en cuanto al atributo sabor entre los cuatro tratamientos.

Con respecto al uso del cultivo probiótico, los resultados no concuerdan con lo encontrado por LYNCH *et al.*, (1999) quienes al incorporar la cepa *L. paracasei* como

adjunto a queso Cheddar obtuvieron una mayor intensidad de sabor y aparición de sabores amargos, lo que relacionan a una aceleración en la maduración de este queso. Igualmente KALAVROUZITI *et al.* (2005) reportan que al incorporar *L. rhamnosus* y *L. paracasei* en un queso duro se tuvo mayor puntaje en sabor que el queso control, indicando que el sabor se mejoró debido al mayor contenido de grupos amino libres, aunque estos corresponden a quesos de mayor maduración que el Gauda.

En el contenido de sal, a pesar de que los niveles fueron relativamente bajos para todos los tratamientos (CUADRO 6), comparado con los contenidos señalados para queso Gauda (NIKLITSCHK, 1999; SUTHERLAND, 2002; BAZAES, 2004; BINTSIS, 2006) los panelistas no detectaron esta situación en su evaluación respecto al sabor.

4.4.2 Atributos de textura. LUCEY *et al.* (2003), indican que las propiedades físicas del queso como el cuerpo son influenciadas por la composición inicial de la leche, procedimientos de elaboración y condiciones de maduración y dentro de éstos los dos factores que más influencia tienen en estas propiedades son la condición en que se encuentran las micelas de caseína (interacciones entre y dentro de las moléculas y cantidad de calcio asociado con esas partículas) y la extensión de la proteólisis.

Además, estos autores señalan que las características de textura cambian a través de la maduración debido a la proteólisis, pérdida de humedad, absorción de sal, cambios en el pH y la leve disolución del calcio residual asociado con las partículas de caseína.

Por otra parte los cambios en las propiedades texturales son universales para todos los tipos de queso (GWARTNEY, 2002).

En el presente estudio la textura del queso o consistencia fue desglosada en cuatro atributos: firmeza, elasticidad, adhesividad y cohesividad. Las definiciones para cada atributo se presentan en el ANEXO 2 y las calificaciones promedio de los panelistas son presentadas en el CUADRO 11.

4.4.2.1 Firmeza. La definición usada para determinar la magnitud de este parámetro fue “fuerza requerida para penetrar la masa del queso con los molares” (ANEXO 2). Del análisis estadístico se desprende que existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos ($p < 0.05$), siendo el tratamiento T1 el que presenta menor firmeza y es diferente a los tratamientos T2, T3 y T4, que se encuentran dentro de un grupo homogéneo. En la FIGURA 13 se aprecia claramente dicha situación.

Los puntajes otorgados por los panelistas indican que el queso correspondiente al tratamiento T1 tiene un valor promedio de 2,79; que según la escala usada, se entiende como muy cercano a “blando”, mientras que T2, T3 y T4 se acercan al 5, correspondiente a “ligeramente firme”.

Existe un consenso entre muchos autores respecto a que al disminuir el contenido de materia grasa en el queso en diferentes niveles aumenta la firmeza de éste (JAMESON, 1990; GWARTNEY *et al.*, 2002; JOHNSON, 2002; GUINEE, 2002; BANKS, 2004). BRITO *et al.* (2003) señalan que en quesos Chanco de grasa reducida y elaborados con leche homogenizada la firmeza resulta claramente inferior en el queso de grasa completa que en los de menor contenido graso, lo mismo indican

RUDAN *et al.* (1999), para quienes la reducción del contenido de materia grasa en queso Mozzarella, aumenta la firmeza.

Esto se puede explicar porque la grasa en el queso se encuentra dispersa entre los agregados de caseína. El glóbulo graso no interactúa con la red proteica, por lo tanto, la grasa actúa como un relleno inerte que separa físicamente los agregados de caseína. Al disminuir el contenido de materia grasa, la proporción de caseína es más alta y las interacciones entre las moléculas son más firmes y numerosas, por ende se pierde la suavidad y masticabilidad del queso, resultando quesos más firmes que los quesos con toda su grasa (JOHNSON, 2002).

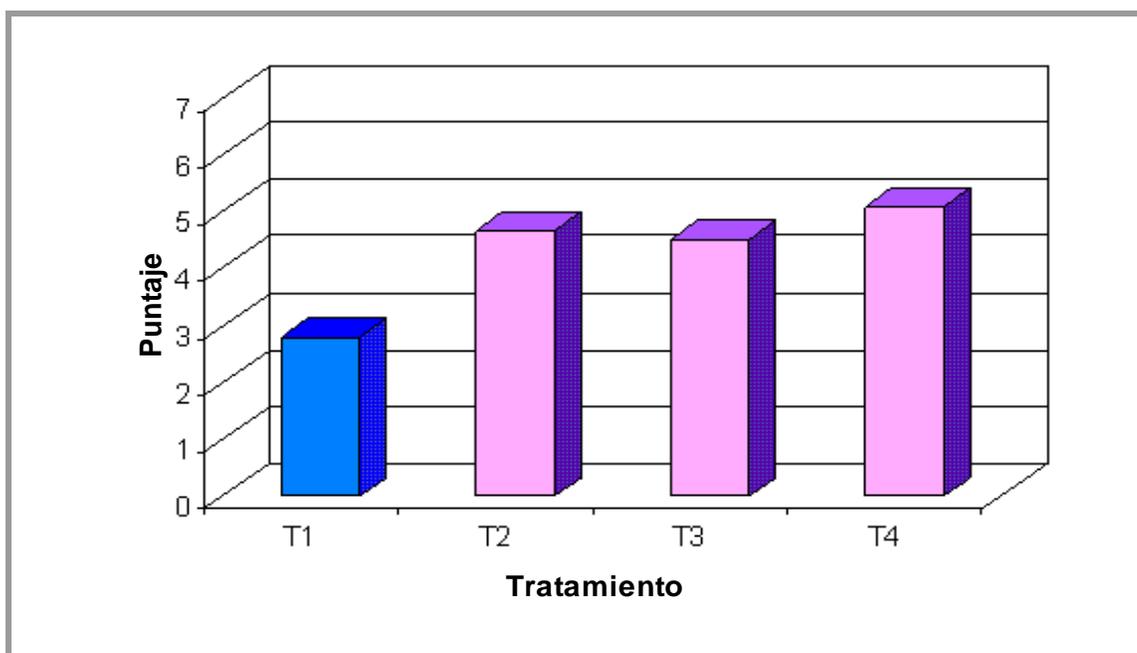


FIGURA 13 Calificaciones promedio para el atributo “Firmeza” otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración (1: muy blando; 4: normal; 7: muy firme).

Otro factor importante en la firmeza del queso es el contenido de humedad en queso desgrasado (HQD), la cual debe ser igual o levemente superior que la de quesos con toda la grasa (JAMESON, 1990; Ardö (1997) citado por LIZAMA, 2004), esto supera la mayor firmeza debido al parcial reemplazo de grasa por agua en la matriz proteica. Esta situación no se dio en el presente estudio, como se aprecia en el CUADRO 4, lo que concuerda con lo señalado por RUDAN *et al.* (1999), quienes indican que al disminuir el contenido de materia grasa aumenta la humedad, pero esto no compensa totalmente los efectos de la reducción de grasa, por lo que el volumen total de relleno (grasa más agua) disminuye y la matriz proteica se hace más compacta.

Es importante señalar que existe una correlación significativa entre el contenido de caseína intacta y la firmeza del queso, por lo tanto a medida que avanza la

maduración, debido a la hidrólisis e hidratación de las caseínas, disminuye la firmeza del producto (GUINEE, 2002; BROWN *et al.*, 2003).

4.4.2.2 Elasticidad. Según O'CALLAGHAN y GUINEE (2004) la elasticidad es la proporción en la cual un material deformado vuelve a su forma original después de que la fuerza ha sido removida. En el análisis sensorial realizado para evaluar este atributo de textura se usó la definición “deformación (estiramiento) de la masa sin producirse ruptura de ésta” (ANEXO 2).

En el CUADRO 11 se presentan los promedios de los puntajes asignados por los panelistas para este atributo y en la FIGURA 14 puede observarse gráficamente la situación. Respecto al análisis de estos resultados, la estadística arroja que los cuatro tratamientos son similares entre sí ($p > 0.05$), aunque numéricamente se aprecia que los tratamientos T2, T3 y T4 son cercanos entre sí y mayores a T1.

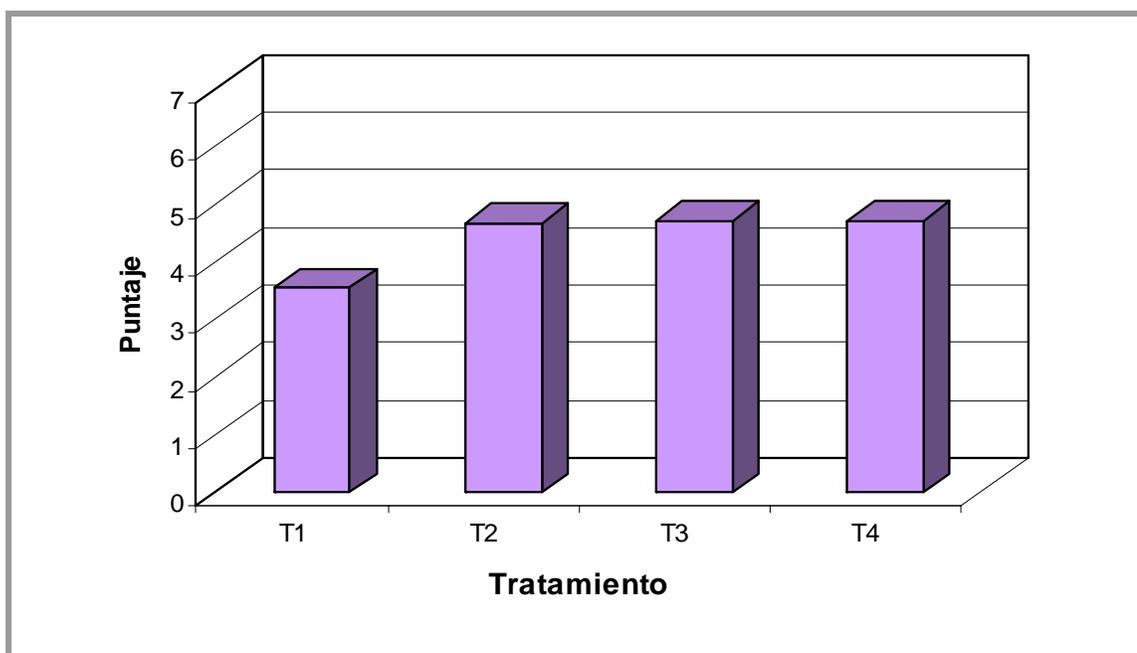


FIGURA 14 Calificaciones promedio para el atributo “Elasticidad” otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración (1: poco elástico; 4: elástico; 7: muy elástico).

Con respecto a la disminución del contenido de materia grasa, varios investigadores están de acuerdo en que la elasticidad aumenta al reducir la grasa en el queso (JAMESON, 1990; RUDAN *et al.*, 1990; GWARTNEY *et al.*, 2002; GUINEE, 2002). Al reducir el contenido de grasa, la concentración de caseína en la matriz aumenta, así los enlaces dentro y entre éstas son más numerosos por lo que la matriz presenta mayor elasticidad, recuperando más fácilmente su forma después de una compresión (GUINEE, 2002; KAHYAOGU *et al.*, 2005).

Respecto al comportamiento de la elasticidad durante la maduración, cabe hacer notar que la hidrólisis e hidratación de las caseínas contribuye a una reducción de ésta (GUINEE, 2002). Dicha reducción se puede atribuir a la liberación del calcio iónico desde la molécula para-k-caseinato y a la hidrólisis de estas moléculas durante la maduración, ya que éstas son las responsables de la elasticidad de la cuajada (MAIFRENI *et al.*, 2002).

4.4.2.3 Adhesividad. La adhesividad es el trabajo necesario para superar las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de otro material con el cual este se pone en contacto, tales como la boca, paladar y lengua (O'CALLAGHAN y GUINEE, 2004). En este estudio la definición usada para la evaluación de este parámetro fue "capacidad de la masa de pegarse o unirse al paladar durante su masticación, también corresponde la dificultad para remover el queso desde el paladar durante la degustación" (ANEXO 2).

La prueba estadística sobre la existencia de concordancia entre los puntajes asignados por los jueces para este atributo (W de Kendall), indicó que no existe concordancia (ANEXO 3), por lo que no corresponde realizar un análisis estadístico de los datos (análisis de varianza). Lo anterior se debe posiblemente a la falta de mayor entrenamiento de los jueces respecto a este parámetro, que es considerado como difícil de entender y de aplicar adecuadamente la forma de evaluarlo (ARTEAGA, 2004).

Sin embargo, al observar los resultados de este atributo (CUADRO 11), se ve una tendencia a una mayor adhesividad en el tratamiento T1 que en los demás tratamientos. Esto se explica porque la remoción de grasa aumenta el contenido de proteína alterando la matriz proteica, haciéndola más compacta y por lo tanto menos adhesiva (BRYANT *et al.*, 1995).

Al respecto, BRITO *et al.* (2003) indican que la adhesividad en queso Chanco de contenido de grasa normal es mayor que la de los quesos de baja grasa elaborados con leche homogenizada y que este atributo se relaciona con la mantecosidad del queso.

Durante la maduración la adhesividad aumenta y esto se relaciona a la formación de nitrógeno soluble y a la degradación de la caseína (BERTOLA *et al.*, 1992). Esto evidencia que el contenido de proteína es el factor que más influye en la adhesividad de los quesos (BRYANT *et al.*, 1995).

4.4.2.4 Cohesividad. La definición utilizada para evaluar este parámetro es "continuidad de la masa (homogeneidad) al paladar" (ANEXO 2).

En el CUADRO 11 se presentan los valores promedio de las calificaciones de los jueces con sus respectivas desviaciones estándar. Del análisis estadístico de los datos se desprende que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los cuatro tratamientos, encontrándose T3 y T4 en un grupo homogéneo y presentando menor cohesividad y siendo diferentes a T2 y T1, siendo este último el que presenta mayor cohesividad. Lo anteriormente señalado puede observarse en la FIGURA 16.

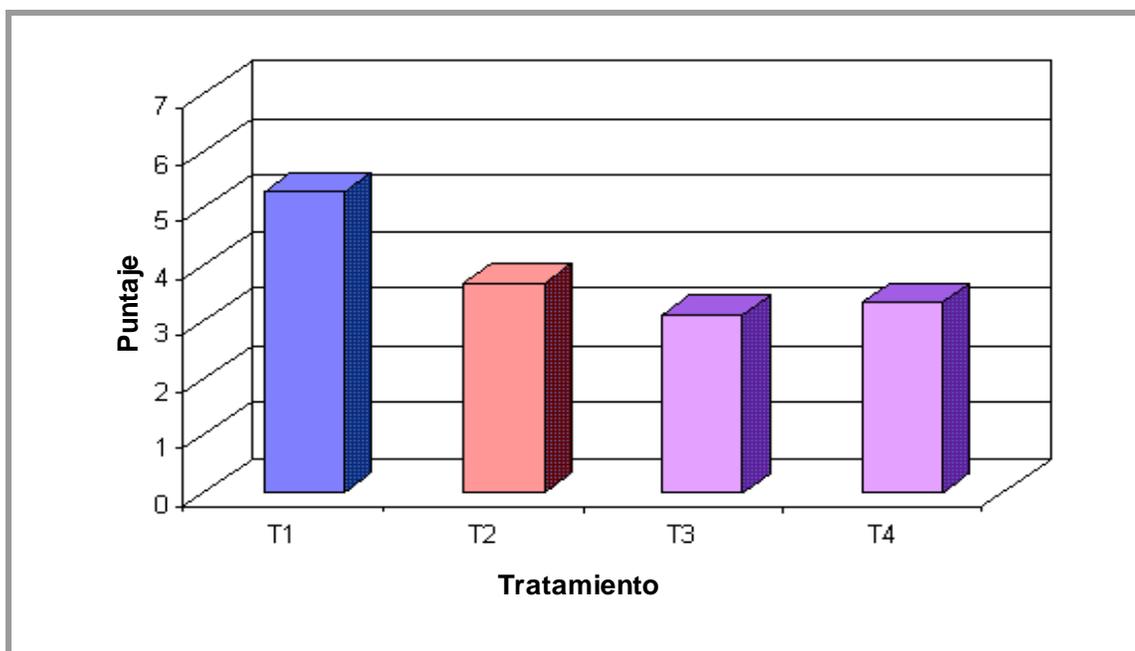


FIGURA 15 Calificaciones promedio para el atributo “Cohesividad” otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración (1: quebradizo; 4: normal; 7: muy cohesivo).

Que el tratamiento T1 sea el que posee mayor cohesividad concuerda con lo expresado por RUDAN *et al.* (1999), quienes indican que al disminuir el contenido de materia grasa en queso Mozzarella, disminuye la cohesividad. Por su parte KAHYAOGU *et al.* (2005) señalan que la naturaleza de la matriz proteica y la cantidad y distribución de los glóbulos de grasa contribuyen a la cohesividad y que estos son los factores más importantes con respecto a las propiedades texturales. ARTEAGA (2004) concluye que todo componente del queso que afecta el tipo de enlaces entre las micelas de caseína para formar la red va a interferir en la cohesividad.

Así, en un estudio de queso Chanco elaborado con leche homogenizada y cultivo adjunto hay diferencias significativas en la cohesividad del queso de grasa completa y los tratamientos reducidos en grasa, presentando éstos menor cohesividad (BRITO *et al.*, 2006)

Un aumento en la cohesividad a medida que el queso madura se puede relacionar a la hidrólisis relativamente rápida de la red caseínica resultando en un producto más suave y homogéneo (MAIFRENI *et al.*, 2002; BROWN *et al.*, 2003).

4.4.3 Apreciación general. La apreciación general de los quesos en estudio evaluada por el panel de jueces es presentada numéricamente en el CUADRO 11 y graficada en la FIGURA 16.

Los cuatro tratamientos evaluados son similares estadísticamente ($p > 0.05$) y no se observan diferencias entre ellos (FIGURA 16). Esto indica que las variables incorporadas en este estudio (reducción del contenido de materia grasa y adición de

cultivo probiótico adjunto), no influyeron en la apreciación general de los quesos por los panelistas en forma positiva ni negativa, encontrándose todos los quesos cercanos al valor 5 como promedio, lo que significa “más que regular”, y semejantes al queso Gauda con toda su grasa (T1, control).

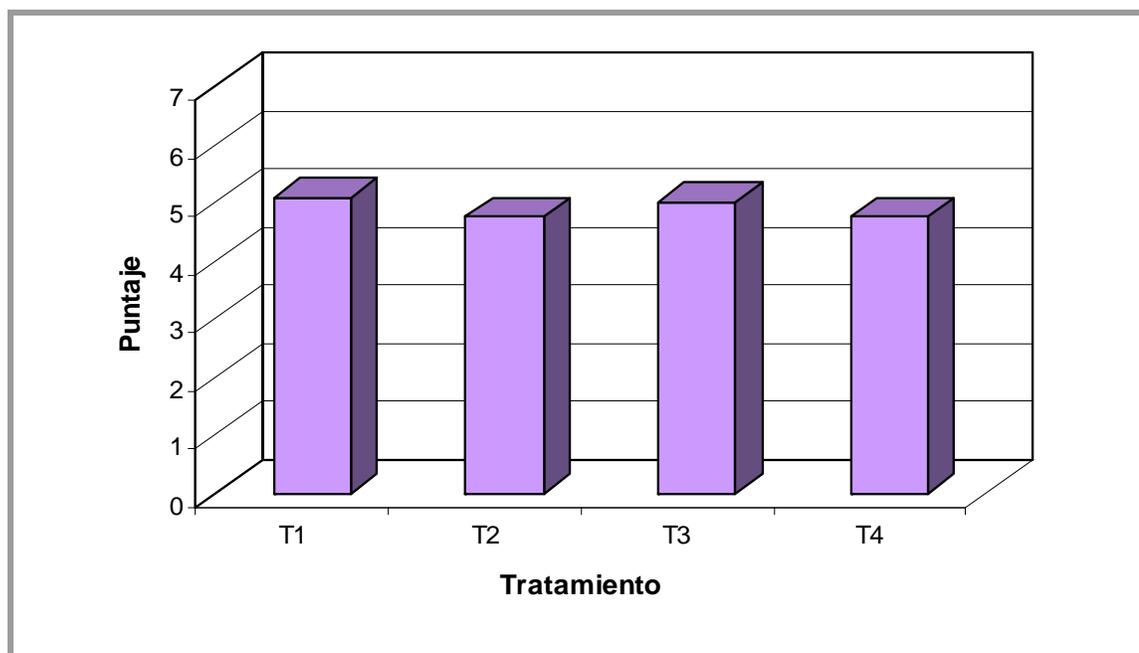


FIGURA 16 Calificaciones promedio para el atributo “Apreciación general” otorgadas por los panelistas a los 21 días de maduración (1: muy malo; 4: regular; 7: muy bueno).

Estos resultados no concuerdan con KALAVROUZIOU *et al.* (2005) quienes indican que al incorporar *L. rhamnosus* y *L. paracasei* en un queso duro se registraron mayores puntajes en aceptación general en los quesos experimentales que en el queso control, lo que relacionan a la mayor actividad enzimática presente en estos quesos que produce mayor lipólisis y grupos amino libres. Esto se explica porque en un queso Gauda, por ser de muy corta maduración (21 días), la lipólisis prácticamente no se alcanza a manifestar, y la proteólisis, que afecta directamente el sabor y la textura debido a la producción de compuestos volátiles, derivados de las formas solubles (péptidos y aminoácidos) obtenidas en la maduración, no presentó diferencias estadísticas entre los cuatro tratamientos en estudio.

5 CONCLUSIONES

En base a los objetivos planteados en la investigación y a los resultados obtenidos, es posible concluir lo siguiente:

- Con respecto a las características físicas y químicas, la evolución del pH y contenido de sal (NaCl) no fueron afectados por las variables estudiadas, la humedad fue superior en los quesos con disminución del contenido de grasa respecto al control sin reducción de este parámetro, y el contenido de materia grasa fue menor en aproximadamente un 35% respecto al control, por lo tanto corresponden a quesos reducidos en grasa.
- La proteólisis, medida por el contenido de tirosina soluble en TCA 12%, fue similar en todos los tratamientos tanto al inicio como al final de la maduración, mostrando que las variables de reducción de grasa e incorporación del cultivo *L.paracasei* subsp.*paracasei* no tuvieron influencia sobre este parámetro.
- El número de células del probiótico *L.paracasei* subsp.*paracasei* se mantuvo sobre 10^8 ufc/g en el tratamiento T3 y sobre 10^7 ufc/g en T4 durante todo el período de maduración, estos valores, junto con la reducción de grasa, permiten que los quesos sean considerados “alimentos funcionales”.
- En relación a la calidad sensorial del queso, las calificaciones de los panelistas indicaron que la reducción del contenido de materia grasa e incorporación del cultivo probiótico *L.paracasei* subsp.*paracasei* no afectaron negativamente los parámetros de sabor y apreciación general. Respecto a la textura, no hubo concordancia entre las calificaciones para adhesividad, todos los quesos se presentaron similares en elasticidad, mientras que los quesos reducidos en grasa fueron más firmes y menos cohesivos que el control de contenido de grasa normal.

6 RESUMEN

Efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* sobre la maduración de Gauda reducido en grasa.

La finalidad de esta investigación fue estudiar la maduración de queso Gauda reducido en grasa, con incorporación del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, y validar la hipótesis que la aplicación de estas variables, permite obtener un producto final reducido en grasa, de buena calidad sensorial y, con un número adecuado de bacterias probióticas viables para ser considerado un queso funcional. La investigación contempló cuatro tratamientos, con tres repeticiones cada uno: tratamiento control (T1), queso Gauda de contenido de grasa normal; T2, queso Gauda elaborado con leche estandarizada al 1,6 % de materia grasa (QGRG); T3, QGRG con adición del cultivo probiótico en la etapa de adición del cultivo iniciador; T4, QGRG con adición del cultivo probiótico en la etapa del cocimiento de la cuajada. Los análisis se realizaron mediante metodologías estandarizadas (FIL, AOAC, APHA, etc.). Respecto a los parámetros físicos y químicos, la evolución del pH y el contenido de sal no fueron afectados por las variables utilizadas, mientras que el contenido de grasa, como era esperado, fue superior en un 35% en T1 respecto a los tratamientos de grasa reducida. Consecuentemente, el contenido de humedad también presentó diferencias entre tratamientos, siendo mayor en los quesos reducidos en grasa. La proteólisis no mostró diferencias significativas al comienzo ni al término de la maduración entre el queso control y los quesos experimentales. El análisis sensorial de los quesos madurados no evidenció diferencias entre ellos en el sabor y la apreciación general, en cambio en los atributos de textura, los quesos reducidos en grasa fueron más firmes, menos cohesivos y similares en elasticidad con respecto al control, no presentándose concordancia entre calificaciones en adhesividad. Los recuentos de *L. paracasei* durante la maduración se mantuvieron sobre 10^8 ufc/g y sobre 10^7 ufc/g en los quesos con probióticos (T3 y T4, respectivamente), valores que, de acuerdo a los requerimientos mínimos, junto a la reducción de grasa, permiten considerarlos “quesos funcionales”.

Palabras clave: queso Gauda reducido en grasa, maduración, probióticos.

SUMMARY

The effect of probiotic culture *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* on ripening of reduced-fat Gauda.

The purpose of this investigation was to study the ripening of reduced fat Gauda cheese, with incorporation of probiotic culture *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and to prove the hypothesis that with the application of this variables, it is possible to obtain a final product reduced in fat content, with good sensory quality, and with an adequate number of viable probiotic bacteria. The investigation comprised four treatments, three replicates each, control (T1), Gauda cheese normal in fat content; T2, Gauda cheese made from milk standardized at 1.6 % milk fat (QGRG); T3, QGRG with addition of the probiotic culture in the stage of addition of the starter culture; T4, QGRG and probiotic culture added at cooking of the curd. The analyses were carried out by means of standardized methodologies (FIL, AOAC, APHA). With respect to the physical and chemical parameters, the pH evolution and salt content was not affected by the variants used, while the fat content, as expected, was higher in T1 than in the other three treatments. Consequently, the moisture content also showed differences between treatments, being higher in reduced-fat cheeses. No significant differences were evidenced for assessment of proteolysis at beginning and the end of ripening, between control cheese and experimental cheeses. Sensory analysis of ripe cheeses did not show differences among cheeses with respect to flavor and overall acceptance, on the other hand in the texture attributes, the cheeses reduced in fat were firmer, less cohesive and similar in elasticity with regard to the control, being presented with disagreement among qualifications in adhesiveness. Counts of probiotic bacteria during ripening stayed on 10^8 cfu/g and over 10^7 cfu/g in probiotic cheeses (T3 and T4, respectively), value that, according to the minimum requirements, next to the reduction of fat, they allow to consider them "functional cheeses."

Key words: reduced-fat Gauda cheese, ripening, probiotics.

7 BIBLIOGRAFÍA

- ALAIS, CH. 1985. Ciencia de la leche: principios de la técnica lechera. 2ª Ed. Barcelona, España. Reverté. 873p.
- ANURADHA, S. y RAJESHWARI, K. 2005. Probiotics in health and disease. Journal, Indian Academy of Clinical Medicine. 6(1): 67-72.
- ARAYA H., y LUTZ, M. 2003. Alimentos funcionales y saludables. Revista. Chilena de Nutrición. 30(1):8-14.
- ARTEAGA, M. 2004. Evolución de la maduración del queso Chanco elaborado con adición de suero en polvo. Tesis M. Sc. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 236p.
- BANKS, J. 2004. The technology of low-fat cheese manufacture. International Journal of Dairy technology. 57(4):199-207.
- BANKS, J. y WILLIAMS, G. 2004. The role of the nonstarter lactic acid bacteria in Cheddar cheese ripening. International Journal of Dairy Technology. 57(2/3): 145-152.
- BAZAES, M. 2004. Características de calidad química y sensorial de Queso Gauda. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 86 p.
- BEN LAWLOR, J., DELAHUNTY, C., WILKINSON, M., SHEEHAN, J. 2001. Relationships between the sensory characteristics, neutral volatile composition and gross composition of ten cheese varieties. Lait. 81: 487 – 507.
- BERTOLA, N., BEVILACQUA, A. and ZARITZKY, N. 1992. Proteolytic and rheological evaluation of maturation of Tybo Argentino cheese. Journal of Dairy Science. 75(12):3273-3281.
- BINTSIS, T. 2006. Quality of the brine. In: Tamime, A. Brined cheeses. Blackwell Publishing. 324p.
- BLANCHETTE, L., ROY, D., BÉLANGER, G. y GAUTHIER, S.F. 1996. Production of Cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. Journal of Dairy Science. 79(1):8-15.
- BRITO. 1993. Aspectos bioquímicos de la maduración de quesos. Alimentos 4 (18): 40– 55
- , C. 1995. Guía de práctico. Queso Gauda. Caracterización, Procesamiento y Control de Calidad. Tecnología de Productos Lácteos, ITCL 272. Universidad Austral de Chile. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valdivia. 7p.

- , MORALES, O., MOLINA, L., PESSOT, R. y PINTO, M. 1995. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo campo almacenado a altas temperaturas. Parte 1. Parámetros fisicoquímicos y pérdida de peso. *Agro Sur* 23 (2): 95 – 105.
- , ———, ———, PINTO, M. y PESSOT, R. 1996. Evolución de la maduración de queso Chanco tipo campo almacenado a altas temperaturas. Parte II. Proteólisis. *Agro Sur* 24 (1): 1 - 13.
- , MANRIQUEZ, X., MOLINA, L., PINTO, M. 2003. Estudio de maduración de queso Chanco bajo en grasa elaborado con leche homogeneizada. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 53(3):299-305
- , URIBE, P., MOLINA, L., MOLINA, I., PINTO, M. 2006. Production of low-fat Chanco cheese using homogenized milk and adjunct lactic culture. *International Journal of Dairy Technology*. 59(4): 242-249.
- BROWN, J., FOEGEDING, E., DAUBERT, C., DRAKE, M. y GUMPERTZ, M. 2003. Relationships among rheological and sensorial properties of young cheeses. *Journal of Dairy Science*. 86(10):3054-3067.
- BRYANT, A., USTUNOL, Z. y STEFFE, J. 1995. Texture of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. *Journal of Food Science*. 60(6):1216-1219.
- BURROWS, R. 2000. Prevención y tratamiento de la obesidad desde la niñez: la estrategia para disminuir las enfermedades crónicas no transmisibles del adulto. *Revista médica de Chile*. 128(1):105-110.
- CHAMPAGNE, C. y GARDNER, N. 2005. Challenges in the addition of probiotics cultures to foods. *Critical Reviews in Foods Science and Nutrition*. 45: 61-84.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1999. Productos Lácteos. Queso Gauda. Requisitos. Norma Chilena 2478.
- , INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN, INN. 1979 b. Leche y productos lácteos; Determinación del pH. Norma Chilena 1671. Of. 1979.
- . MINISTERIO DE SALUD. 2004. Reglamento Sanitario de los Alimentos. D. S. N° 977. Ediciones Publiley. Santiago, Chile. 286p.
- . MINISTERIO DE AGRICULTURA, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS, ODEPA. 2006. Boletín de la Leche Año 2005. Santiago. Chile. 56 p.
- . MINISTERIO DE AGRICULTURA, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS, ODEPA. 2007. Leche: producción, recepción, precios y comercio exterior. Marzo 2007. Santiago. Chile. 30 p.
- CHUKEATIROTE, E. 2003. Potential use of probiotics. Songklanakarin. *Journal of Food. Science and Technology*. 25(2): 275-282.
- CRITTENDEN, R., SAARELA, M., MÄTTÖ, J., OUWEHAND, A., SALMINEN, S., PELTO, L., VAUGHAN, E., DE VOS, W., VON WRIGHT, A., FONDÉN, R., MATTILA-SANDHOLM, T. 2002. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19: Survival, Ecology and Safety in the Human Intestinal Tract - A Survey of Feeding Studies within the PROBDEMO Project. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 14(1):22-26

- CURRY, B., CROW, V. 2002. *Lactobacillus* spp. In: Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of Dairy Sciences. Elsevier. Londres. pp1479-1511.
- DAIGLE, A., ROY, D., BÉLANGER, G. y VUILLEMARD, J.C. 1999. Production of probiotic cheese (Cheddar-like cheese) using enriched cheese fermented by *Bifidobacterium infantis*. Journal of Dairy Science. 82(6):1081-1091.
- DE VUYST, L. 2000. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. Food Technology and Biotechnology. 38(2):105-112.
- DINAKAR, P. y MISTRY, V.V. 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. Journal of Dairy Science. 77(10):2854-2864.
- DIPLOCK, A.T., AGGETT, P.J., ASHWELL, M., BORNET, F., FERN, E.B., ROBERFROID, M. 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. British Journal of Nutrition. 81: S1- S27.
- DURING, A., COMBE, N., MAZETTE, S. y ENTRESSANGLES, B. 2000. Effects on cholesterol balance and LDL cholesterol in the rat of a soft-ripened cheese containing vegetable oils. Journal of American College of Nutrition. 19(4):458-466.
- 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.
- FAO, FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. 1986. Manual correspondiente al Módulo III-B. Elaboración de quesos. Equipo regional de fomento y capacitación en lechería de la FAO para América Latina. Santiago, Chile. 132p.
- FERNANDEZ, F. y RODRÍGUEZ, A. 2005. Queso probiótico, un Ejemplo de Queso Funcional. Mundo Lácteo y Cárnico. Mayo/Junio:19-23
- FERRER, B. Y DALMAU, J. 2001. Alimentos funcionales: probióticos. Acta Pediátrica Española. 59 (3): 49-54
- FOX, P. y McSWEENEY, P. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Blackie Academic & Professional. Londres. 479 p.
- . 2002. Biochemistry of cheese ripening. In: Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of Dairy Sciences. Elsevier. Londres. pp 320-326.
- , COGAN, T. 2004. Factors that affect the quality of cheese. In: Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier. Londres. pp. 583-608.
- GARDINER, G., ROSS, R.P., COLLINS, J.K., FITZGUERALD, G. y STANTON, C. 1998. Development of a probiotic Cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. Applied and Environmental Microbiology. 64(6): 2192-2199.
- , STANTON, C., LYNCH, P.B., COLLINS, J.K., FITZGUERALD, G. y ROSS, R.P. 1999. Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. Journal of dairy Science. 82(7):1379-1387.

- GOBBETTI, M., CORSETTI, A., SMACCHI, E., ZOCCHETTI, A. y DE ANGELIS, M. 1998. Production of Crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*. 81 (1): 37-47.
- GOMPERTZ, G. 2004. Elaboración y comercialización de queso de leche de oveja en el secano mediterráneo de la VI región de Chile. Estudio y evaluación de alternativas. Tesis M.Sc. Santiago. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. 151p.
- GONZALEZ DEL LLANO, D.1990. Bioquímica de la maduración del queso: (II) Proteólisis. *Industrias lácteas españolas*. 147:47-51.
- GUINEE, T. 2002. Cheese rheology. In : Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Londres. pp 341-349.
- . 2004. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2/3):99-109.
- GWARTNEY, E., FOEGEDING, E. and LARICK, D. 2002. The texture of commercial full-fat and reduced-fat cheese. *Journal of Food Science*. 67(2):812-816.
- HELLER, K. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73 (suppl):374S-379S.
- JAMESON, G. 1990. Cheese with less fat. *Australian Journal of Dairy Technology*. 45: 93-98
- JOHNSON, M.E. 2002. Low-Fat cheese. In: Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Londres. pp 439-444.
- KALAVROUZOTI, I., HATZIKAMARI, M., LITOPOULOU-TZANETAKI, E. y TZANETAKIS, N. 2005. Production of hard cheese from caprine milk by the use of two types of probiotic cultures as adjuncts. *International Journal of Dairy Technology*. 58(1): 30-38.
- KASIMOĞLU, A., GÖNCÜOĞLU, M., AKGÜN, S. 2004. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *International Dairy Journal*. 14: 1067-1073.
- KAHYAOĞLU, 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.
- KELLY, M., FOX, P., McSWEENEY, P. 1996. Effect of salt-in-moisture on proteolysis in Cheddar-type cheese. *Milchwissenschaft*. 51(9): 498-501.
- LIONG, M.T. y SHAH, N.P. 2005. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *Journal of Dairy Science*. 88(1): 55-66.
- LIZAMA, A. 2004. Estudio de la maduración en queso Chanco de reducido tenor graso, elaborado con la incorporación de imitadores grasos. Tesis Lic. Cs. Alim. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 162 p.
- LUCEY, J., JOHNSON, M., HORNE, D. 2003. Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*. 86(9): 2725–2743.
- LYNCH, C., MUIR, D., BANKS, J., McSWEENEY, P., FOX, P. 1999. Influence of adjunct cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus*

- plantarum* on Cheddar cheese ripening. Journal of Dairy Science. 82 (8):1618-1628.
- MAIFRENI, M., MARINO, M., PITTIA, P. and RONDINI, G. 2002. Textural and sensorial characterization of Montasio cheese produced using proteolytic starters. *Milchwissenschaft*. 57(1):23-25.
- MCSWEENEY, P. 2004a. Biochemistry of cheese ripening: Introduction and overview. **In:** Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp. 347-360.
- . 2004b. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2/3): 127-144.
- MORALES, I., GALGANI, J., AGUIRRE, C. 2003. Relación entre la ingesta de ácidos grasos, la oxidación de substratos energéticos y la respuesta insulínica. *Revista Chilena de Nutrición*. 30(1):15-20.
- MORALES, G. 1993. Efectos de altas temperaturas de maduración, sobre las características fisicoquímicas y fisicoorganolépticas del queso Chanco. Tesis M. Sc. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 148p.
- MOORMAN, P. y TERRY, P. 2004. Consumption of dairy products and the risk of breast cancer: a review of the literature. *American Journal of Clinical Nutrition*. 80:5-14.
- NIKLITSCHKE, L. 1999. Evaluación de ecuaciones predictivas del rendimiento teórico en queso tipo Gouda. Tesis Magister en Ciencias y Tecnología de la Leche. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. 135 p.
- O'BRIEN, N. y O'CONNOR, T. 2004. Nutritional aspects of cheese. **In:** Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp 573-581.
- O'CALLAGHAN, D. y GUINEE, T. 2004. Rheology and texture of cheese. **In:** Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volumen 1. 3ª Ed. Elsevier. Londres. pp 511-540.
- OLIVEIRA, M. y BRITO, C. 2006. Brined cheeses and analogues of latin american origin. **In:** Tamime, A. Brined cheeses. Blackwell Publishing. 324p.
- PARMENTIER, M., WEBER, F. 1990. La humedad en los quesos. *Industrias lácteas españolas*. 142: 109-116
- PINTO, M., VEGA y LEON, S. y PEREZ, N. 1998. Métodos de Análisis de la Leche y Derivados. Imprenta Universitaria, S.A. Valdivia. Chile. 489 p.
- ROY, D. 2005. Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. *Lait*. 85: 39-56.
- RUDAN, M., BARBANO, D., YUN, J. y KINDSTEDT, P. 1999. Effect of fat reduction on chemical composition, proteólisis, functionality, and yield of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*. 82(4):661-672.
- SALAZAR, S. 2005. Maduración de queso Chanco de reducido contenido graso, 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.

- SALMINEN, S y OUWEHAND, A. 2002. Probiotics, applications in dairy products. **In:** Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of dairy Science. Elsevier. Londres. pp 2315-2322.
- SAMPLES, D, R, RICHTER, R, L y DILL, C, W. 1984. Measuring Proteolysis in Cheddar Cheese Slurries: Comparison of Hull and Trinitrobenzene Sulfonic Acid Procedures. Journal of Dairy Science. 67: 60 - 63.
- SANZ, Y., COLLADO, M.C., DALMAU, J.2003. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta pediátrica Española. 61(9):476-482.
- SCOTT, R. 1991. Fabricación de queso. Acribia. Zaragoza. España.519 p.
- SHAH, N.P. 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science. 83(4):894-907.
- SMIT, G., VAN HYLCKAMA, E., SMIT, B., AYAD, E.y ENGELS, W. 2002. Fermentative formation of flavor compounds by lactic acid bacteria. The Australian Journal of Dairy Technology. 57: 61-68
- SONGISEPP, E., KULLISAAR, T., HÜTT, P., ELIAS, P., BRILENE, T., ZILMER, M. y MIKELSAAR, M. 2004. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. Journal of Dairy Science. 87(7):2017-2023.
- SULLIVAN, A., BARKHOLT, L., NORD, C. 2003. *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus* F19 prevent antibiotic-associated ecological disturbances of *Bacteroides fragilis* in the intestine. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 52:308-311.
- SUTHERLAND (2002). Salting of cheese. **In:** Roginski, H., Fuquay, J and Fox, P. Encyclopedia of dairy Science. Elsevier. Londres. pp 293-300.
- TUNGJAROENCHAI, W., DRAKE, M., WHITE, C. 2001. Influence of adjunct cultures on ripening of reduced fat Edam cheeses. Journal of dairy science. 84(10): 2117-2124.
- URTEAGA, C. 2003. Guías alimentarias para la población chilena. **In:** Manual de Alimentación y Nutrición Humana. Departamento de nutrición. Facultad de medicina. Universidad de Chile. pp 26-27.
- VALENZUELA, A.y RONCO, A. 2004. Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la proteccion de la salud cardiovascular. Revista Chilena de Nutrición. 21(1):161-169.
- VERDU, E., BERCIK, P., BERGONZELLI, G., HUANG, X., BLENNERHASSET, P., ROCHAT, F., FIAUX, M., MANSOURIAN, R., CORTHESEY-THEULAZ, I., COLLINS, S. 2004. *Lactobacillus paracasei* normalizes muscle hypercontractility in a murine model of postinfective gut dysfunction. [Gastroenterology](#).127(3):826-837.

ANEXOS

ANEXO 1

Método: Análisis descriptivo global.

PLANILLA DE EVALUACIÓN SENSORIAL
(Análisis descriptivo sabor-textura-apreciación general)

Nombre:

Fecha:

Hora:

Sírvase analizar las siguientes muestras, tomando en cuenta las características de los atributos descritos en el anexo. En la siguiente escala marque el puntaje que mejor represente su opinión.

SABOR

1	2	3	4	5	6	7
↓			↓			↓
No desarrollado			Normal			Demasiado intenso

PERFIL DE TEXTURA**FIRMEZA**

1	2	3	4	5	6	7
↓			↓			↓
Muy blando			Normal			Muy firme

ELASTICIDAD

1	2	3	4	5	6	7
↓			↓			↓
Poco elástico, quebradizo			Elástico			Muy elástico

ADHESIVIDAD

1	2	3	4	5	6	7
↓			↓			↓
Poco adhesivo			Adhesivo			Muy adhesivo

COHESIVIDAD

1	2	3	4	5	6	7
↓			↓			↓
Quebradizo			Normal			Muy cohesivo

APRECIACIÓN GENERAL

1	2	3	4	5	6	7
↓			↓			↓
Muy bueno	Bueno	Más que regular	Regular	Menos que regular	Malo	Muy malo

COMENTARIOS:-----

ANEXO 2

DESCRIPCIÓN DE ATRIBUTOS SENSORIALES DE QUESO GAUDA.

<p>SABOR (GUSTO – AROMA)</p>	<p>El aroma es evaluado olfateando el centro de la muestra de queso, a su vez, el gusto se evalúa masticando pequeños pedazos. El sabor debe ser puro, agradable, medianamente intenso, poco salado y poco ácido. Se consideran defectos sabores amargo, salado, ácido, rancio, a levadura, a forraje, insípidos, etc.</p>
<p>ATRIBUTOS DE TEXTURA</p> <p>Firmeza</p> <p>Elasticidad</p> <p>Cohesividad</p> <p>Adhesividad</p>	<p>Fuerza requerida para penetrar la masa del queso con los molares. El queso Gauda debe ser de consistencia firme, apta para cortar.</p> <p>Deformación (estiramiento) de la masa sin producirse ruptura de ésta. Debe doblarse la muestra de queso, levemente con las manos. El queso Gauda debe ser de masa elástica.</p> <p>Continuidad de la masa (homogeneidad) al paladar.</p> <p>Capacidad de la masa de pegarse o unirse al paladar durante su masticación, también corresponde la dificultad para remover el queso desde el paladar durante la degustación.</p>
<p>APRECIACIÓN GENERAL</p>	<p>Evaluación global de los atributos anteriormente señalados considerando además atributos de apariencia como: color de la masa interna la cual debe ser amarillo pálido y la textura de la masa la cual debe ser cerrada o con escasos ojos redondos (de cultivos lácticos). Además el queso Gauda no debe contener impurezas o sustancias extrañas de cualquier naturaleza.</p>

FUENTE: elaboración propia a partir de BRITO (1995), CHILE, INN (1999) y SALAZAR (2005).

ANEXO 3

Resultados análisis físicos y químicos.

Humedad día 0 (%)				Humedad día 21 (%)			
Tratamiento 1				Tratamiento 1			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	50,16	50,62	50,39	R1	49,01	49,34	49,18
R2	52,47	51,74	52,11	R2	50,78	50,75	50,77
R3	51,36	51,6	51,48	R3	50,49	50,97	50,73
Promedio ± DE			51,33 ± 0,87	Promedio ± DE			50,23 ± 0,91
Tratamiento 2				Tratamiento 2			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	54,55	56,22	54,55	R1	52,5	53,01	52,76
R2	56,48	56,32	56,40	R2	55,17	55,39	55,28
R3	55,58	55,65	55,62	R3	54,76	54,31	54,54
Promedio ± DE			55,52 ± 0,93	Promedio ± DE			54,19 ± 1,30
Tratamiento 3				Tratamiento 3			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	52,56	53,99	53,28	R1	52,1	52,11	52,11
R2	53,12	53,25	53,19	R2	47,63	49,42	48,53
R3	53,67	52,61	53,14	R3	51,87	51,89	51,88
Promedio ± DE			53,20 ± 0,07	Promedio ± DE			50,84 ± 2,00
Tratamiento 4				Tratamiento 4			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	53,11	53,12	53,12	R1	52,19	52,19	52,19
R2	55,55	55,72	55,64	R2	52,42	52,73	52,58
R3	54,23	54,24	54,24	R3	53,71	53,91	53,81
Promedio ± DE			54,33 ± 1,26	Promedio ± DE			52,86 ± 0,85

Humedad en queso desgrasado día 21 (HQD)(%)				
	T1	T2	T3	T4
R1	67,83	63,95	63,16	63,45
R2	69,55	66,60	58,82	63,35
R3	67,64	66,11	61,58	64,83
promedio	68,34	65,55	61,19	63,88

pH día 0 (%)		pH día 21 (%)	
Tratamiento 1		Tratamiento 1	
R1	5.16	R1	5,2
R2	5.4	R2	5,27
R3	5.25	R3	5,2
Promedio ± DE	5,27± 0,12	Promedio ± DE	5,22 ± 0,04
Tratamiento 2		Tratamiento 2	
R1	5.36	R1	5,45
R2	5.1	R2	5,35
R3	5.15	R3	5,35
Promedio ± DE	5,20 ±0,14	Promedio ± DE	5,38 ± 0,06
Tratamiento 3		Tratamiento 3	
R1	5.5	R1	5,6
R2	5.4	R2	5,45
R3	5.27	R3	5,4
Promedio ± DE	5,39± 0,12	Promedio ± DE	5,48± 0,10
Tratamiento 4		Tratamiento 4	
R1	5,65	R1	5,5
R2	5,3	R2	5,32
R3	5,2	R3	5,39
Promedio ± DE	5,38 ± 0,24	Promedio ± DE	5,40 ± 0,09

Proteólisis día 0 (%)				Proteólisis día 21 (%)			
Tratamiento 1				Tratamiento 1			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	0.133	0.127	0.130	R1	0.327	0.311	0.319
R2	0.135	0.135	0.135	R2	0.374	0.297	0.336
R3	0.182	0.212	0.197	R3	0.431	0.363	0.397
Promedio ± DE			0,154 ± 0,04	Promedio ± DE			0,351 ± 0,04
Tratamiento 2				Tratamiento 2			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	0.132	0.140	0.136	R1	0.400	0.401	0.401
R2	0.150	0.147	0.148	R2	0.492	0.384	0.438
R3	0.272	0.232	0.252	R3	0.466	0.425	0.446
Promedio ± DE			0,179 ± 0,06	Promedio ± DE			0,428 ± 0,02
Tratamiento 3				Tratamiento 3			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	0.294	0.207	0.251	R1	0.373	0.399	0.386
R2	0.224	0.184	0.204	R2	0.523	0.369	0.446
R3	0.307	0.273	0.290	R3	0.562	0.470	0.516

Promedio \pm DE				Promedio \pm DE			
0,248 \pm 0,04				0,449 \pm 0,07			
Tratamiento 4				Tratamiento 4			
	1	2	Prom. duplicados		1	2	Prom. duplicados
R1	0.215	0.198	0.207	R1	0.328	0.382	0.355
R2	0.251	0.207	0.229	R2	0.396	0.387	0.392
R3	0.294	0.250	0.272	R3	0.592	0.532	0.562
Promedio \pm DE				Promedio \pm DE			
0,236 \pm 0,03				0,436 \pm 0,11			

Materia grasa (día 21) (%)												
	T1			T2			T3			T4		
	1	2	Prom.	1	2	Prom.	1	2	Prom.	1	2	Prom.
R1	27	28	27.5	17	18	17.5	17	18	17.5	17.5	18	17.75
R2	27	27	27	17	17	17	18	17	17.5	17	17	17
R3	25	25	25	17.5	17.5	17.5	16	15.5	15.75	17	17	17
Prom	26,50 \pm 1,32			17,33 \pm 0,29			16,92 \pm 1,01			17,25 \pm 0,43		

Materia grasa en base seca (día 21) (MG/BS) (%)				
	T1	T2	T3	T4
R1	55,43	38,50	37,46	37,86
R2	56,38	38,99	37,39	38,32
R3	51,53	39,43	33,61	37,15
Promedio	54,45 \pm 2,57	38,98 \pm 0,47	36,15 \pm 2,20	37,78 \pm 0,59

Cloruros (día 21) (%)												
	T1			T2			T3			T4		
	1	2	Prom.									
R1	1,12	1,12	1,12	0,93	0,93	0,93	1,02	0,98	1	1,02	1,17	1,1
R2	1,17	0,88	1,03	0,59	0,98	0,79	0,63	0,68	0,66	1,02	1,27	1,15
R3	1,32	0,88	1,1	0,88	0,98	0,93	0,83	0,83	0,83	0,83	0,63	0,73
Prom	1,08 \pm 0,05			0,88 \pm 0,08			0,83 \pm 0,17			0,99 \pm 0,23		

Sal en humedad (día 21) (S/H) (%)				
	T1	T2	T3	T4
R1	2.23	1.73	1.88	2.06
R2	1.99	1.41	1.34	2.14
R3	2.12	1.68	1.57	1.34
Promedio	2.11 \pm 0,12	1.61 \pm 0,17	1.60 \pm 0,27	1.85 \pm 0,44

ANEXO 4

Calificaciones otorgadas en la evaluación sensorial de los quesos para todos los atributos evaluados.

JUEZ	TRATAMIENTO	REPETICIÓN	SABOR	PERFIL DE TEXTURA				APRECIACIÓN GENERAL
				F	E	A	C	
1	T1	1	4	3	5	2	3	6
2	T1	1	5	3	5	2	4	5
3	T1	1	5	2	7	5	5	5
4	T1	1	5	3	7	2	4	6
5	T1	1	5	2	2	6	6	4
6	T1	1	5	3	5	5	6	6
7	T1	1	6	2	6	7	5	3
8	T1	1	6	4	7	3	5	7
Promedio			5,125	2,75	5,5	4	4,75	5,25
Desviación estándar			0,64	0,71	1,69	2,00	1,04	1,28
1	T1	2	4	3	3	4	4	5
2	T1	2	6	3	2	6	6	5
3	T1	2	6	3	4	7	7	7
4	T1	2	4	5	2	6	4	6
5	T1	2	6	1	2	5	6	6
6	T1	2	7	5	5	6	6	7
7	T1	2	5	2	4	7	4	6
8	T1	2	5	2	3	7	7	4
Promedio			5,375	3	3,125	6	5,5	5,75
Desviación estándar			1,06	1,41	1,13	1,07	1,31	1,04
1	T1	3	4	4	2	3	5	5
2	T1	3	6	3	3	6	6	4
3	T1	3	2	2	2	6	7	4
4	T1	3	3	2	1	4	3	5
5	T1	3	6	3	1	6	6	3
6	T1	3	4	3	3	4	4	6
7	T1	3	5	3	1	4	7	4
8	T1	3	5	1	3	6	7	3
Promedio			4,375	2,625	2	4,875	5,625	4,25
Desviación estándar			1,41	0,92	0,93	1,25	1,51	1,04
PROMEDIO T1			4,96	2,79	3,54	4,96	5,29	5,08
DESV.ESTÁNDAR T1			1,12	1,02	1,93	1,65	1,30	1,25
1	T2	1	5	6	6	1	2	4
2	T2	1	3	5	6	3	3	5
3	T2	1	2	6	7	3	2	3
4	T2	1	2	5	4	1	3	4
5	T2	1	5	5	6	3	3	5

6	T2	1	3	4	5	3	3	5
7	T2	1	2	4	3	1	1	2
8	T2	1	4	6	7	3	4	4
Promedio			3,25	5,125	5,5	2,25	2,625	4
Desviación estándar			1,28	0,83	1,41	1,04	0,92	1,07
1	T2	2	4	5	3	3	3	4
2	T2	2	5	4	3	4	4	6
3	T2	2	5	5	7	6	4	6
4	T2	2	4	4	6	6	6	4
5	T2	2	5	4	6	4	4	6
6	T2	2	6	5	5	5	5	6
7	T2	2	6	4	2	3	3	6
8	T2	2	3	7	5	4	4	6
Promedio			4,75	4,75	4,625	4,375	4,125	5,5
Desviación estándar			1,04	1,04	1,77	1,19	0,99	0,93
1	T2	3	4	4	3	2	4	5
2	T2	3	5	4	2	6	6	5
3	T2	3	4	4	4	4	4	5
4	T2	3	2	4	3	5	4	4
5	T2	3	4	4	3	5	4	5
6	T2	3	4	4	4	4	3	6
7	T2	3	5	6	6	5	3	2
8	T2	3	5	3	6	4	6	6
Promedio			4,125	4,125	3,875	4,375	4,25	4,75
Desviación estándar			0,99	0,83	1,46	1,19	1,16	1,28
PROMEDIO T1			4,04	4,67	4,67	3,67	3,67	4,75
DESV.ESTÁNDAR T1			1,23	0,96	1,63	1,49	1,24	1,22
1	T3	1	4	3	6	2	4	3
2	T3	1	4	4	5	4	4	6
3	T3	1	3	5	4	2	3	3
4	T3	1	3	4	4	2	3	5
5	T3	1	5	5	3	4	4	6
6	T3	1	3	4	6	3	3	6
7	T3	1	4	4	5	2	3	6
8	T3	1	4	4	7	4	5	6
Promedio			3,75	4,125	5	2,875	3,625	5,125
Desviación estándar			0,71	0,64	1,31	0,99	0,74	1,36
1	T3	2	3	4	5	3	3	6
2	T3	2	4	6	4	3	3	5
3	T3	2	3	4	7	4	3	6
4	T3	2	2	7	1	1	2	3
5	T3	2	2	6	2	1	1	5
6	T3	2	5	5	5	4	4	6
7	T3	2	1	1	5	1	1	5
8	T3	2	2	5	7	1	1	2
Promedio			2,75	4,75	4,5	2,25	2,25	4,75

Desviación estándar			1,28	1,83	2,14	1,39	1,16	1,49
1	T3	3	4	4	4	3	3	6
2	T3	3	5	5	4	5	5	6
3	T3	3	5	4	5	5	5	5
4	T3	3	2	5	3	3	2	4
5	T3	3	3	4	6	2	2	5
6	T3	3	3	4	4	3	4	6
7	T3	3	3	5	5	1	3	6
8	T3	3	4	6	6	5	4	3
Promedio			3,625	4,625	4,625	3,375	3,5	5,125
Desviación estándar			1,06	0,74	1,06	1,51	1,20	1,13
PROMEDIO T1			3,38	4,50	4,71	2,83	3,13	5,00
DESV.ESTÁNDAR T1			1,10	1,18	1,52	1,34	1,19	1,29
1	T4	1	5	6	2	1	2	5
2	T4	1	3	6	6	2	2	4
3	T4	1	3	7	3	2	2	2
4	T4	1	3	7	3	1	3	4
5	T4	1	2	6	6	1	1	4
6	T4	1	4	5	6	4	4	6
7	T4	1	3	6	2	3	6	4
8	T4	1	3	7	6	5	3	4
Promedio			3,25	6,25	4,25	2,375	2,875	4,125
Desviación estándar			0,89	0,71	1,91	1,51	1,55	1,13
1	T4	2	3	5	5	3	3	6
2	T4	2	5	5	4	3	3	5
3	T4	2	4	5	6	5	4	5
4	T4	2	4	4	7	3	3	5
5	T4	2	4	4	6	4	3	4
6	T4	2	5	4	4	3	3	6
7	T4	2	3	6	1	3	3	2
8	T4	2	4	4	5	3	3	6
Promedio			4	4,625	4,75	3,375	3,125	4,875
Desviación estándar			0,76	0,74	1,83	0,74	0,35	1,36
1	T4	3	5	4	4	2	4	5
2	T4	3	5	3	5	5	5	6
3	T4	3	6	5	6	5	6	6
4	T4	3	4	4	5	4	3	6
5	T4	3	5	5	4	4	4	6
6	T4	3	4	4	4	3	5	6
7	T4	3	2	6	6	2	2	3
8	T4	3	4	4	7	2	3	4
Promedio			4,375	4,375	5,125	3,375	4	5,25
Desviación estándar			1,19	0,92	1,13	1,30	1,31	1,16
PROMEDIO T1			3,88	5,08	4,71	3,04	3,33	4,75
DESV.ESTÁNDAR T1			1,03	1,14	1,63	1,27	1,24	1,26

ANEXO 5

Test de concordancia de Kendall para panelistas de evaluación sensorial.

H ₀ : no existe concordancia entre las calificaciones otorgadas por los panelistas H ₁ : existe concordancia entre las calificaciones otorgadas por los panelistas			
Atributo	W de Kendall	χ^2	Valor crítico
Sabor	0.665	15.955	0.000*
Firmeza	0.734	17.628	0.000*
Elasticidad	0.488	11.721	0.003*
Adhesividad	0.083	2	0.368
Cohesividad	0.451	10.821	0.004*
Apreciación general	0.775	18.591	0.000*

* Como el valor del nivel critico es menor que 0.05, es posible rechazar la hipótesis de concordancia nula y concluir que entre las puntuaciones de los panelistas existe asociación significativa.

ANEXO 6

Resultados de los recuentos de *L.paracasei* subsp.*paracasei*.

Día de maduración	Repetición	Tratamiento			
		T3 ufc/g	T3 log ufc/g	T4 ufc/g	T4 log ufc/g
0	R1	1,26 x 10 ⁹	9,100	9,80 x 10 ⁷	7,991
	R2	1,97 x 10 ⁸	8,294	1,20 x 10 ⁸	8,079
	R3	4,60 x 10 ⁸	8,663	SD	SD
	Promedio y DE	6,39 x 10⁸	8,686 ± 0,403	1,09 x 10⁸	8,035 ± 0,062
14	R1	1,68 x 10 ⁷	7,225	SD	SD
	R2	6,30 x 10 ⁸	8,799	8,00 x 10 ⁷	7,903
	R3	SD	SD	9,80 x 10 ⁷	7,991
	Promedio y DE	3,23 x 10⁸	8,012 ± 1,113	8,90 x 10⁷	7,947 ± 0,062
21	R1	7,20 x 10 ⁸	8,857	1,09 x 10 ⁷	7,037
	R2	2,10 x 10 ⁸	8,322	1,30 x 10 ⁸	8,114
	R3	9,50 x 10 ⁸	8,978	4,10 x 10 ⁷	7,613
	Promedio y DE	6,27 x 10⁸	8,719 ± 0,349	6,06 x 10⁷	7,588 ± 0,539
28	R1	9,50 x 10 ⁷	7,978	1,74 x 10 ⁷	7,241
	R2	3,60 x 10 ⁸	8,556	6,70 x 10 ⁷	7,826
	R3	1,69 x 10 ⁸	8,228	5,40 x 10 ⁷	7,732
	Promedio y DE	2,08 x 10⁸	8,254 ± 0,29	4,61 x 10⁷	7,600 ± 0,314
35	R1	SD	SD	SD	SD
	R2	1,83 x 10 ⁸	8,262	5,80 x 10 ⁷	7,763
	R3	4,60 x 10 ⁸	8,663	9,35 x 10 ⁷	7,971
	Promedio y DE	3,22 x 10⁸	8,463 ± 0,284	7,58x 10⁷	7,867 ± 0,147

SD: Sin dato

DE: Desviación estándar

ANEXO 7

Procedimientos de los métodos de análisis.

7.1 Determinación de tirosina soluble en TCA.

Método de HULL, 1947 determina la hidrólisis parcial de las proteínas de la leche, expresado en términos de contenido de tirosina adaptado por ARNOTT *et al*, 1957, y descrita por SAMPLES *et al*, 1984.

Principio del método: el ácido tricloroacético es usado para remover medianos y pequeños péptidos y aminoácidos, en un extracto soluble de queso; la fracción soluble de TCA al 12%, contiene pequeños péptidos y aminoácidos, quedándose los grandes y medianos en el precipitado. Al agregar al filtrado el reactivo de Folin-Ciocalteau se desarrolla un color azul, debido a la reducción del fosfomolibdato-fosfotungstato del reactivo por los aminoácidos aromáticos (tirosina); la intensidad de color se mide espectrofotométricamente. La concentración de tirosina de las proteínas es relativamente constante, y exhibe una absorción ultravioleta a 650 nm, luego la concentración proteica debe ser por lo tanto proporcional a la absorción a 650 nm.

Procedimiento:

- 1.- Pesar 1 gramo de muestra de queso en duplicado, en un tubo de ensayo.
- 2.- Dispersar (con varilla de vidrio) en 5,4 ml de agua destilada.
- 3.- Colocar en baño María a 40°C por 5 minutos.
- 4.- Adicionar 10 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 12% a cada suspensión y luego de 10 minutos de reposo, es filtrado a través de papel filtro Whatman N° 2.
- 5.- Pipetear 5 ml de cada filtrado.
- 6.- Adicionar 10 ml de una solución que contiene 15% de carbonato de sodio y 2% de hexametafosfato de sodio. (La solución de HMNa-Na₂CO₃, preferiblemente debe estar a 40°C al momento del análisis).
- 7.- Adicionar 3 ml del reactivo Folin-Ciocalteau (diluido 1:2 en agua destilada).
- 8.- Mezclar cuidadosamente la solución.
- 9.- Reposo por 5 minutos (no más de 10 minutos).
- 10.- Medir la absorbancia contra un blanco a 650 nm.

Los resultados de absorbancia obtenidos, son convertidos a su equivalente en µg/ml utilizando la curva estándar. Los resultados se expresan en mg/g.

FUENTE: MORALES (1993).

7.2 Análisis microbiológico para recuento de *L.paracasei* subsp.*paracasei*.

10 g de queso son transferidos a una bolsa estéril bajo condiciones asépticas y homogenizados en 90 ml de citrato de sodio (2% p/v) por 2 min usando un stomacher. Se preparan diluciones seriales agregando 1 ml a 9 ml de agua peptonada (0.1% p/v). (APHA, 1992). Se siembra en placas con agar MRS-IM (cuya composición se indica a continuación, la que se diferencia con el medio MRS en nivel de algunos ingredientes) y se incuban a 36°C por 72 h.

Los 10 g de queso son tomados bajo condiciones asépticas desde una pieza de la parte central del queso, mediante un sacabocado previamente estéril (flameado).

Agar MRS-IM

1. Composición

Triptona o peptona de caseína	10 g
Extracto de levadura	5 g
Tween 80	1 g
Fosfato dibásico de potasio	2.6 g
Acetato de sodio.3H ₂ O	5 g
Citrato dibásico de amonio	2 g
Sulfato de magnesio	0.2 g
Sulfato de manganeso	0.05 g
Agar	13 g

2. Preparación

Disolver los ingredientes en 1 litro de agua destilada y ajustar el pH a 6.9+/- 0.1, distribuir en frascos un volumen determinado y esterilizar a 121°C por 15 minutos.

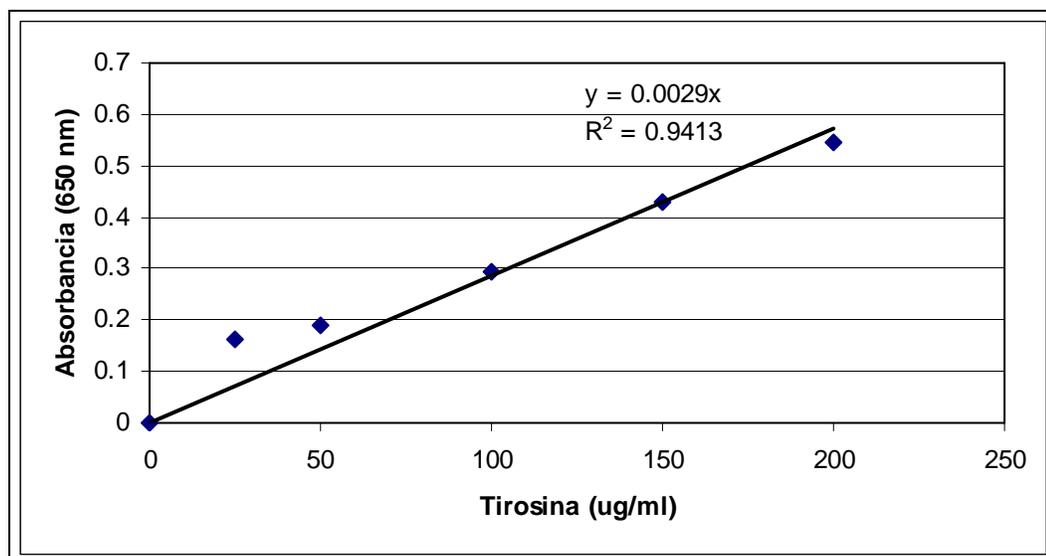
Agar MRS

Triptona o peptona de caseína	10 g
Extracto de levadura	4 g
Extracto de carne	10 g
Tween 80	1 g
Fosfato dibásico de potasio	2 g
Acetato de sodio.3H ₂ O	5 g
Citrato dibásico de amonio	2 g
Sulfato de magnesio	0.2 g
Sulfato de manganeso	0.04 g
Agar	14 g
Glucosa D(+)	20 g

ANEXO 8

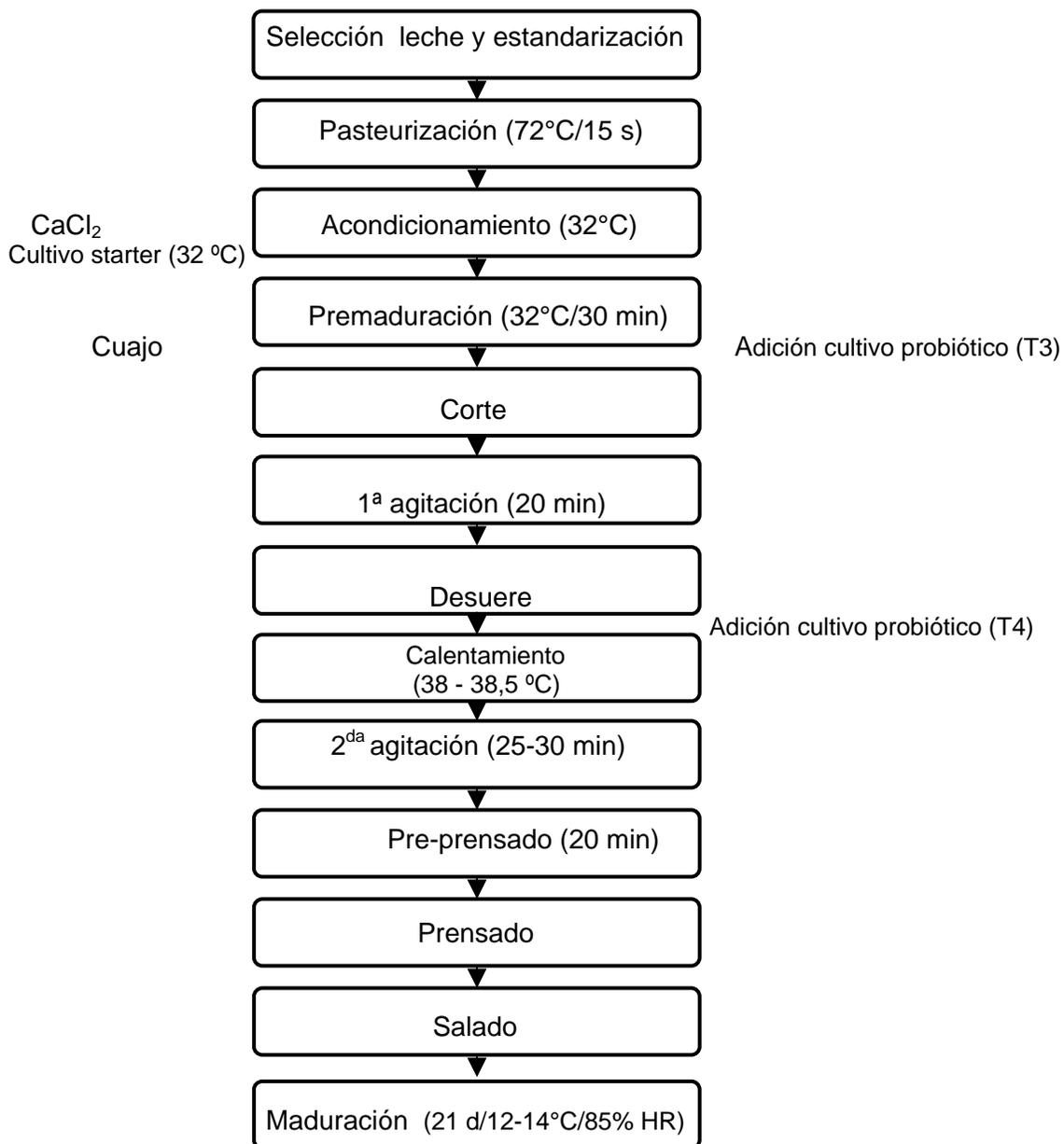
Curva estándar de tirosina soluble en TCA 12%

Tirosina (ug/ml)	Absorbancia (650 nm)
0	0
25	0,163
50	0,19
100	0,294
150	0,429
200	0,546



ANEXO 9

Línea de flujo proceso elaboración queso Gauda



FUENTE: OLIVEIRA y BRITO (2006)

ANEXO 10

Análisis estadístico para el contenido de humedad, entre tratamientos

Día 0

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	51,33	0,757	0,870
2	3	55,52	0,863	0,929
3	3	53,20	0,005	0,071
4	3	54,33	1,594	1,263

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,495221	0,514475
Bartlett	2,99093	0,0642397
Levene	1,17123	0,379392

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	28,687	3	9,56233	11,88	0,0026 (*)
Intra-grupos	6,43807	8	0,804758		
Total	35,1251	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	51,33	a
2	55,52	b
3	53,20	ab
4	54,33	b

Día 21

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	50,23	0,822	0,907
2	3	54,19	1,678	1,295
3	3	50,84	4,015	2,004
4	3	52,86	0,715	0,846

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,555369	0,351609
Bartlett	1,28139	0,649995
Levene	0,215062	0,883239

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	30,1111	3	10,037	5,55	0,0234(*)
Intra-grupos	14,4599	8	1,80749		
Total	44,571	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	50,23	a
2	54,19	b
3	50,84	ab
4	52,86	ab

Análisis estadístico para el contenido de humedad, entre tiempos

Tratamiento 1

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,503922	0,986709
Bartlett	1,00003	0,986658
Levene	0,0000238539	0,996199

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	3,64101	1	3,64101	5,29	0,0443(*)
Intra-grupos	6,88268	10	0,688268		
Total	10,5237	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Día	Promedio	Grupos homogéneos
0	50,2233	a
21	51,325	b

Tratamiento 2

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,733223	0,291398
Bartlett	1,13052	0,290944
Levene	1,19458	0,300037

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	7,7763	1	7,7763	8,16	0,0171(*)
Intra-grupos	9,5308	10	0,95308		
Total	17,3071	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Día	Promedio	Grupos homogéneos
0	54,19	a
21	55,8	b

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,91648	0,0199758(*)
Bartlett	1,80723	0,0203668
Levene	1,07678	0,323859

(*)El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

p-valor	0,00394654 (*)
---------	----------------

(*)El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas de los días, con un 95% de confianza.

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,685417	0,41284
Bartlett	1,07678	0,412193
Levene	0,534574	0,481471

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	6,4827	1	6,4827	6,95	0,0249(*)
Intra-grupos	9,32437	10	0,932437		
Total	15,8071	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Día	Promedio	Grupos homogéneos
0	52,8583	a
21	54,3283	b

ANEXO 11

Análisis estadístico para el contenido de humedad en queso desgrasado (HQD), entre tratamientos (día 21)

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	68,34	1,107	1,052
2	3	65,55	1,988	1,41
3	3	61,19	4,825	2,197
4	3	63,88	0,684	0,827

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,560765	0,338962
Bartlett	1,31021	0,61737
Levene	0,451941	0,722992

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	80,9791	3	26,993		
Intra-grupos	17,2084	8	2,15105	12,55	0,0022(*)
Total	98,1875	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	68,34	c
2	65,5533	bc
3	61,1867	a
4	63,8767	ab

ANEXO 12

Análisis estadístico para el contenido de materia grasa, entre tratamientos (día 21)

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	26,5	1,75	1,323
2	3	17,33	0,083	0,289
3	3	16,92	1,021	1,010
4	3	17,25	0,188	0,433

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,575342	0,306321
Bartlett	1,86037	0,249831
Levene	0,479532	0,705432

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	196,292	3	65,4306	86,05	0,0000(*)
Intra-grupos	6,08333	8	0,760417		
Total	202,375	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	26,5	b
2	17,33	a
3	16,92	a
4	17,25	a

ANEXO 13

Análisis estadístico para el contenido de materia grasa en base seca (MG/BS), entre tratamientos (día 21)

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	54,45	6,606	2,570
2	3	38,97	0,216	0,465
3	3	36,15	4,853	2,203
4	3	37,78	0,347	0,589

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,549463	0,365806
Bartlett	2,41215	0,120197
Levene	0,562986	0,654424

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	647,984	3	215,995	71,86	0,0000(*)
Intra-grupos	24,0447	8	3,00558		
Total	672,029	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	54,45	b
2	38,97	a
3	36,15	a
4	37,78	a

ANEXO 14

Análisis estadístico para el contenido de sal (NaCl), entre tratamientos (día 21)

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	1,08	0,002	0,047
2	3	0,88	0,007	0,081
3	3	0,83	0,029	0,17
4	3	0,99	0,053	0,229

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,582872	0,290315
Bartlett	1,84955	0,253859
Levene	0,574534	0,647627

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,115425	3	0,038475	1,70	0,2429
Intra-grupos	0,1806	8	0,022575		
Total	0,296025	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza.

ANEXO 15

Análisis estadístico para el contenido de sal en humedad (S/H), entre tratamientos (día 21)

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	2,11	0,014	0,120
2	3	1,61	0,029	0,172
3	3	1,60	0,073	0,271
4	3	1,85	0,194	0,441

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,622954	0,214409
Bartlett	1,56783	0,395139
Levene	0,405685	0,753141

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,536225	3	0,178742	2,29	0,1547
Intra-grupos	0,623267	8	0,0779083		
Total	1,15949	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con un 95% de confianza.

ANEXO 16

Análisis estadístico para el pH, entre tratamientos

Día 0

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,27	0,015	0,121
2	3	5,20	0,019	0,138
3	3	5,39	0,013	0,115
4	3	5,38	0,056	0,236

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,542774	0,382344
Bartlett	1,20454	0,745318
Levene	0,263264	0,85004

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter grupos	0,0742333	3	0,0247444	0,96	0,4562
Intra grupos	0,205733	8	0,0257167		
Total	0,279967	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Día 21**Descriptivos**

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,22	0,002	0,040
2	3	5,38	0,003	0,058
3	3	5,48	0,011	0,104
4	3	5,40	0,008	0,091

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,450763	0,662735
Bartlett	1,27992	0,651715
Levene	0,373301	0,774723

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,1068	3	0,0356	5,93	0,0198(*)
Intra-grupos	0,0480667	8	0,00600833		
Total	0,154867	11			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	5,22	a
2	5,38	ab
3	5,48	b
4	5,40	ab

Análisis estadístico para el pH, entre tiempos

Tratamiento 1

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,9	0,2
Bartlett	1,66667	0,201059
Levene	1,31364	0,315642

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,00326667	1	0,00326667	0,40	0,5614
Intra-grupos	0,0326667	4	0,00816667		
Total	0,0359333	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Tratamiento 2

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,850969	0,298063
Bartlett	1,40402	0,29738
Levene	0,555315	0,497559

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0486	1	0,0486	4,35	0,1055
Intra-grupos	0,0447333	4	0,0111833		
Total	0,0933333	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,551105	0,89779
Bartlett	1,00526	0,896862
Levene	0,0286624	0,873778

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0130667	1	0,0130667	1,08	0,3568
Intra-grupos	0,0482667	4	0,0120667		
Total	0,0613333	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,871488	0,257024
Bartlett	1,49406	0,257008
Levene	0,682584	0,455128

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0006	1	0,0006	0,02	0,8978
Intra-grupos	0,128133	4	0,0320333		
Total	0,128733	5			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

ANEXO 17

Análisis estadístico para la proteólisis (mg/g tirosina soluble en TCA 12%), entre tratamientos

Día 0

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	0,154	0,001	0,037
2	3	0,179	0,004	0,064
3	3	0,248	0,002	0,043
4	3	0,236	0,001	0,033

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,483888	0,549912
Bartlett	1,14195	0,830532
Levene	0,135065	0,936361

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0183929	3	0,00613097	2,92	0,1005
Intra-grupos	0,0168193	8	0,00210242		
Total	0,0352122	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Día 21

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	0,351	0,002	0,041
2	3	0,428	0,001	0,110
3	3	0,449	0,012	0,065
4	3	0,436	0,004	0,024

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,652432	0,167951
Bartlett	1,75587	0,623883
Levene	0,615765	0,292462

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,017835	3	0,005945	1,27	0,3474
Intra-grupos	0,0373567	8	0,00466958		
Total	0,0551917	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Análisis estadístico para la proteólisis (mg/g tirosina soluble en TCA 12%), entre días Tratamiento 1

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,547041	0,905918
Bartlett	1,00446	0,905062
Levene	0,0185242	0,898314

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0580167	1	0,0580167	37,73	0,0036 (*)
Intra-grupos	0,00615067	4	0,00153767		
Total	0,0641673	5			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Día	Promedio	Grupos homogéneos
0	0,154	a
21	0,350667	b

Tratamiento 2

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,875942	0,248117
Bartlett	1,51677	0,248258
Levene	0,464651	0,532881

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0935002	1	0,0935002	40,25	0,0032(*)
Intra-grupos	0,00929133	4	0,00232283		
Total	0,102791	5			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Día	Promedio	Grupos homogéneos
0	0,178667	a
21	0,428333	b

Tratamiento 3

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,695395	0,60921
Bartlett	1,08639	0,606602
Levene	0,312409	0,606017

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	0,0606015	1	0,0606015	19,91	0,0111(*)
Intra-grupos	0,0121753	4	0,00304383		
Total	0,0727768	5			

(*) el p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los días, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Día	Promedio	Grupos homogéneos
0	0,248333	a
21	0,449333	b

Tratamiento 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,888976	0,039433(*)
Bartlett	1,59154	0,0398397
Levene	1,43345	0,258813

(*)El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

p-valor	0,00394654 (*)
---------	----------------

(*)El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre las medianas de los días, con un 95% de confianza.

ANEXO 18

**Análisis estadístico para los recuentos de *L.paracasei* subsp.*paracasei*, entre tiempos
Tratamiento 3**

Descriptivos

Día	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
0	3	6,39E8	3,06523E17	5,53645E8
14	3	2,156E8	1,28866E17	3,58979E8
21	3	6,26667E8	1,43433E17	3,78726E8
28	3	2,08E8	1,8697E16	1,36737E8
35	3	2,14333E8	5,36363E16	2,31595E8

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,470737	0,392335
Bartlett	1,4582	0,534124
Levene	0,393902	0,808608

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	6,35939E17	4	1,58985E17	1,22	0,3616
Intra-grupos	1,30231E18	10	1,30231E17		
Total	1,93825E18	14			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tiempos, con un 95% de confianza.

Tratamiento 4**Descriptivos**

Día	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
0	3	7,26667E7	4,08133E15	6,38853E7
14	3	3,26667E7	3,20133E15	5,65803E7
21	3	6,06333E7	3,8353E15	6,19298E7
28	3	4,61333E7	6,61453E14	2,57187E7
35	3	5,05E7	2,22775E15	4,7199E7

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,291375	1,0
Bartlett	1,18501	0,841659
Levene	0,149952	0,958769

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter-grupos	2,73222E15	4	6,83054E14	0,24	0,9069
Intra-grupos	2,80143E16	10	2,80143E15		
Total	3,07466E16	14			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tiempos, con un 95% de confianza.

ANEXO 19

Análisis estadísticos para el atributo sabor, entre tratamientos

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	4,96333	0,270833	0,520416
2	3	4,04333	0,568133	0,753746
3	3	3,37667	0,298133	0,546016
4	3	3,87667	0,330633	0,575007

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,387082	0,921016
Bartlett	1,04559	0,960941
Levene	0,103705	0,955588

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter grupos	3,95023	3	1,31674	3,59	0,0659
Intra grupos	2,93547	8	0,366933		
Total	6,8857	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

ANEXO 20

Análisis estadísticos para el atributo firmeza, entre tratamientos

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	2,79333	0,0356333	0,188768
2	3	4,67	0,2548	0,504777
3	3	4,50333	0,108133	0,328836
4	3	5,08667	1,03063	1,0152

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,721126	0,086753
Bartlett	2,00333	0,203527
Levene	0,610105	0,627094

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter grupos	9,18527	3	3,06176	8,57	0,0070(*)
Intra grupos	2,8584	8	0,3573		
Total	12,0437	11			

(*)El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	2,79333	a
2	4,67	b
3	4,50333	b
4	5,08667	b

ANEXO 21

Análisis estadísticos para el atributo elasticidad, entre tratamientos

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	3,54333	3,19063	1,78623
2	3	4,67	0,6573	0,81074
3	3	4,71	0,0673	0,259422
4	3	4,71	0,1948	0,441362

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,776304	0,0447752(*)
Bartlett	2,52333	0,105545
Levene	1,37021	0,319828

(*)El menor de los p-valores es inferior a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar no son homogéneas, con un 95% de confianza.

Prueba de Kruskal-Wallis

p-valor	0,827635
---------	----------

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias significativas entre las medianas de los tratamientos.

ANEXO 22

Análisis estadísticos para el atributo adhesividad, entre tratamientos

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	4,96	1,0048	1,0024
2	3	3,67	1,5123	1,22976
3	3	2,83667	0,320633	0,566245
4	3	3,04667	0,333333	0,57735

El test de concordancia de Kendall para panelistas de la evaluación sensorial indica que no existe concordancia entre las puntuaciones para este atributo, por lo que no corresponde realizar un análisis estadístico (ANEXO 5).

ANEXO 23

Análisis estadísticos para el atributo cohesividad, entre tratamientos

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,29333	0,225633	0,475009
2	3	3,67	0,8148	0,902663
3	3	3,12667	0,580633	0,761993
4	3	3,33667	0,345633	0,587906

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,414298	0,803693
Bartlett	1,12185	0,858711
Levene	0,0894492	0,96382

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter grupos	8,70647	3	2,90216	5,90	0,0200(*)
Intra grupos	3,9334	8	0,491675		
Total	12,6399	11			

(*)El p-valor es menor a 0,05, por lo tanto existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.

Comparaciones múltiples HSD de Tukey, 95 %

Tratamiento	Promedio	Grupos homogéneos
1	5,29333	b
2	3,67	ab
3	3,12667	a
4	3,33667	a

ANEXO 24

Análisis estadísticos para la apreciación general, entre tratamientos

Descriptivos

Tratamiento	N	Promedio	Varianza	Desv. estándar
1	3	5,08333	0,583333	0,763763
2	3	4,75	0,5625	0,75
3	3	5,00333	0,0481333	0,219393
4	3	4,75333	0,325633	0,570643

Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba		p-valor
Cochran	0,383873	0,935559
Bartlett	1,41862	0,509622
Levene	0,593499	0,636602

El menor de los p-valores es mayor a 0,05, por lo tanto las desviaciones estándar son homogéneas, con un 95% de confianza.

Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Inter grupos	0,264825	3	0,088275	0,23	0,8714
Intra grupos	3,0392	8	0,3799		
Total	3,30402	11			

El p-valor es mayor a 0,05, por lo tanto no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, con un 95% de confianza.