

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

Evaluación Microbiológica, Química y Sensorial de Queso
Chanco de Mercado

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

Laura Pamela Poveda Maldonado

Valdivia – Chile

2007

Profesor patrocinante

Renate Schöbitz Twele

Tecnólogo Medico, M. Sc.

Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias

Profesores informantes

Luz Haydée Molina Carrasco

Profesora de Biología y Química

Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias

Carmen Brito Contreras

Ingeniero en Alimentos, M. Sc.

Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos

Facultad de Ciencias Agrarias

AGRADECIMIENTOS

- ❁ *Le agradezco a Dios por mi familia, protección y bendiciones que me ha dado durante mi vida.*

- ❁ *A mi profesora patrocinante señora Renate Shöbitz por su paciencia y ayuda durante este trabajo.*

- ❁ *A la señora Mariella Horzella y señora Marcia Costa por su tiempo, dedicación y ayuda en los análisis realizados para este trabajo en los laboratorios del ICYTAL.*

- ❁ *A mis profesoras informantes señora Carmen Brito y señora Luz Haydee Molina por su colaboración.*

- ❁ *A mis amigos, amigas, mi hermana Eva y mi hermano Carlitos que me animaron siempre, gracias por todos esos momentos compartidos tanto de ocio como también de estudio.*

*A mi papá y mamá por su
esfuerzo, dedicación y apoyo.*

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Producción de queso	3
2.1.1	Exportaciones de quesos	4
2.1.2	Importaciones de quesos	5
2.2	Zonas de elaboración	6
2.3	Queso Chanco	8
2.3.1	Definición	8
2.3.2	Composición	8
2.4	Transformaciones químicas y físicas durante la maduración del queso	9
2.4.1	Proteólisis	9
2.4.2	Lipólisis	10
2.4.3	Descomposición de la lactosa	10
2.4.4	Cambios en las características organolépticas durante la maduración	11
2.5	Alteraciones microbiológicas que afectan los quesos	13
2.5.1	Hinchazón de los quesos	14
2.5.2	Crecimiento de mohos	14
2.5.3	Putrefacción	15
2.6	Microorganismos indicadores y su efecto en los quesos	15
2.6.1	Tratamiento térmico y contenido de fosfatasa alcalina en los quesos	15

2.6.2	Enterobacterias	16
2.6.3	Escherichia coli	16
2.6.4	Staphylococcus aureus	17
2.6.5	Mohos	17
2.6.6	Levaduras	18
2.7	Normativa chilena para quesos	18
3	MATERIAL Y METODO	20
3.1	Origen de las muestras	20
3.1.1	Número de marcas por región	20
3.1.2	Frecuencia y forma del muestreo	20
3.2	Toma de muestra	21
3.3	Análisis microbiológico	22
3.3.1	Preparación de la muestra	22
3.3.2	Recuento de enterobacterias	22
3.3.3	Confirmación de <i>E. Coli</i>	22
3.3.4	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	22
3.3.5	Recuento de mohos y levaduras	22
3.4	Análisis químico	22
3.4.1	Determinación de tirosina soluble en TCA	22
3.4.2	Determinación de fosfatasa residual	22
3.5	Evaluación sensorial	22
3.5.1	Selección del panel	22
3.5.2	Preparación de las muestras	23
3.5.3	Tests descriptivo	23
3.5.4	Escala hedónica	23
3.5.5	Descripción de los atributos que se evalúan	23
3.6	Análisis de datos	23
4	RESULTADOS Y DISCUSION	25

4.1	Resultados de análisis microbiológicos	25
4.1.1	Recuentos de enterobacterias y <i>Escherichia coli</i>	25
4.1.2	Recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
4.1.3	Recuentos de mohos y levaduras	32
4.2	Resultados del análisis de fosfatasa alcalina y tirosina soluble	35
4.2.1	Actividad de la fosfatasa alcalina	35
4.2.2	Tiempo de maduración	39
4.3	Resultados análisis sensorial	41
5	CONCLUSIONES	44
6	RESUMEN	45
	SUMMARY	46
7	BIBLIOGRAFIA	47
	ANEXOS	56

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Recepción nacional de leche en plantas y elaboración industrial de quesos y quesillos	4
2	Exportación de queso Gouda por país de destino (kg)	5
3	Importación de queso Gouda por país de origen (Kg)	6
4	Producción en kilos y porcentaje de queso por región	6
5	Elaboración de quesos por las empresas lecheras en 2006	7
6	Parámetros microbiológicos para quesos madurados	18
7	Características fisicoquímicas del queso Chanco madurado (20 días)	19
8	Frecuencia de muestreo	21
9	Recuentos de enterobacterias y <i>E. coli</i> de los quesos por región (log ufc/g)	28
10	Recuentos de <i>S. aureus</i> de los quesos por región (log ufc/g)	31
11	Recuentos de mohos y levaduras de los quesos por región (log ufc/g)	33
12	Contenido de fosfatasa alcalina residual en queso Chanco por región	36

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema de toma de muestras en el queso	21
2	Promedio mensual de recuentos de enterobacterias y <i>Escherichia coli</i> de los quesos por región y su relación con valores M y m establecidos por el R.S.A.	27
3	Promedio mensual de recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> de los quesos por región y su relación con valores M y m establecidos por el R.S.A.	32
4	Promedio mensual de recuentos de mohos y levaduras en los quesos de cada región	34
5	Distribución de las 60 muestras de queso Chanco de mercado, según el contenido de fosfatasa alcalina	38
6	Tiempo de maduración, estimado según el contenido de tirosina soluble, de los quesos por región	40
7	Promedio general del análisis sensorial de los quesos por región, según test descriptivo y escala hedónica	42

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Determinación de tirosina soluble en TCA y fosfatasa alcalina residual	56
2	Evaluación sensorial a queso Chanco	60
3	Atributos a evaluar en queso Chanco	61
4	Resultados microbiológicos para queso Chanco	63
5	Análisis estadístico de los recuentos microbiológicos	65
6	pH de las muestras de queso	68
7	Resultados de fosfatasa alcalina residual	69
8	Resultado del contenido de tirosina y estimación del tiempo de maduración con ecuación	70
9	Resultados de evaluación sensorial	72

1 INTRODUCCIÓN

El queso Chanco es uno de los quesos de mayor consumo en nuestro país. Su producción se concentra en las regiones Metropolitana, Octava, Novena y Décima, esta última registrando el mayor volumen por ser una zona productora de leche en grandes cantidades y tener un alto número de empresas elaboradoras de lácteos.

Para la elaboración de queso es necesario no sólo una materia prima de buena calidad nutritiva sino también una calidad microbiológica óptima para evitar defectos en el producto final y asegurar la salud de los consumidores.

Al momento de elaborar un queso Chanco se presentan diversos factores que afectan el producto final, es por ello que se obtienen quesos con diferentes características tanto microbiológicas como organolépticas y químicas, según el tipo de producción ya sea industrial o artesanal. Entre los factores que afectan estas características están la calidad y tratamientos de la materia prima, tiempos de maduración y tecnología utilizada para la elaboración.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar las características microbiológicas, químicas y sensoriales de queso Chanco de mercado procedente de distintas zonas del país.

Objetivos específicos

- Determinar la calidad microbiológica de muestras de queso Chanco de mercado
- Evaluar el tratamiento térmico de la leche utilizada en la elaboración de queso a través del contenido de fosfatasa alcalina en los quesos
- Determinar el contenido de tirosina soluble en el queso, como indicador de su nivel de maduración al momento de su consumo
- Evaluar las características sensoriales de los quesos y su aceptación por parte del consumidor
- Establecer diferencias de los parámetros antes mencionados, entre las zonas elaboradoras de queso Chanco de distintas marcas comerciales

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Producción de queso

A pesar de que en el país se establecieron normas para clasificar los quesos, los datos estadísticos no especifican los diferentes tipos o variedades que se producen en el país. Sin embargo, se puede estimar que, en el año 2004, alrededor del 70% del queso que se produjo a nivel industrial fue de tipo Gouda y el queso tipo Chanco alcanza alrededor del 20% de la producción. También se producen otros tipos de quesos, entre los que destacan los de pasta dura, como Reggianito y Parmesano (ESNAOLA, 2005).

En el CUADRO 1 se muestra la evolución de producción y recepción nacional de leche y de la producción industrial de quesos y quesillos en el período 2001-2006. Se puede destacar el año 2004 por tener mayor producción industrial de quesos y quesillos, cerca de 59.000 toneladas y casi 8.300 toneladas, respectivamente, producidos con unos 630 millones de litros de leche. Esto significa que los quesos y quesillos ocuparon el primer lugar como producto lácteo elaborado, superando a la leche en polvo, cuya producción en el año 2004 llegó a 63.633 toneladas, equivalentes a poco más de 560 millones de litros (alrededor del 33% de la recepción total) (ESNAOLA, 2005).

Según FEDELECHE (2006), la producción nacional de queso en la temporada 2005 creció en un 14% debido al aumento en las exportaciones de este producto y en el año 2006 al mes de septiembre cayó en un 0,9% en relación a la producción de 2005.

CUADRO 1 Recepción nacional de leche en plantas y elaboración industrial de quesos y quesillos.

Años	Recepción en plantas (miles litros)	Elaboración de quesos (ton)	Elaboración de quesillos (ton)
2001	1.636.461	50.417	7.150
2002	1.605.392	53.075	7.480
2003	1.563.169	53.037	7.555
2004	1.676.480	58.849	8.296
2005	1.723.253	67.175	10.506
2006	1.818.115	62.071	9.088

Fuente: ODEPA (2006).

2.1.1 Exportaciones de quesos. Según un artículo en el DIARIO PYME (2004), los quesos que fueron enviados a los mercados externos son variedades de queso fresco, queso de crema, Mozzarella, queso rallado o en polvo, queso fundido, Gouda, Cheddar, Edam y Parmesano, sin embargo, del total de envíos el 90% correspondió al tipo Gouda.

En los primeros meses de 2005 las exportaciones de quesos alcanzaron a más de 14.000 toneladas, cifra que duplica las importaciones realizadas en el mismo período y es muy superior a lo exportado en todo el año 2004 (ESNAOLA, 2005). En cuanto a los países de destino durante el año 2006, México ha adquirido más del 98% del queso Gouda nacional exportado, Corea del Sur y Estados Unidos presentan pequeños volúmenes como se muestra en el CUADRO 2 (ODEPA, 2006).

Según INDAP (CHILE, 2006), una baja cercana al 50% en los volúmenes de envíos al exterior, en enero de 2006, genera inquietud a las empresas productoras de queso, cuyo principal destino de los productos lo constituye el mercado mexicano, que representa el 60% del mercado de exportación para productos lácteos chilenos. La falta de diversidad de mercados para las exportaciones del sector, quizá sea el principal problema que queda al

descubierto, ocasionado por un aumento de la oferta interna del mercado mexicano. En tal sentido, es conveniente conseguir una mayor diversificación de mercados. En tal perspectiva se inscribe la eventual apertura del mercado chino, como resultado de la reciente negociación con ese país, en la cual los quesos quedaron con una desgravación lineal en cinco años. Igualmente, debería intentarse aprovechar en su totalidad las cuotas libres de arancel que incluyen los acuerdos comerciales con Estados Unidos y la Unión Europea (CHILE, 2006).

CUADRO 2 Exportación de queso Gouda por país de destino (kg).

País de destino	Año 2005	Año 2006	Participación 2006 (%)
Colombia	24.187	0	0,00
Corea del Sur	0	62.426	0,56
EE.UU.	55.309	53.524	0,48
Ecuador	0	25.693	0,23
México	15.087.143	10.923.840	98,23
Los demás	69.332	55.097	0,50
TOTAL	15.260.484	11.120.580	100

Fuente: ODEPA (2006).

2.1.2 Importaciones de quesos. ESNAOLA (2005), indica que entre 2003 y 2004 las importaciones presentan nuevos crecimientos, así como también durante los primeros meses de 2005. En general, la mayor parte de las importaciones masivas corresponden a quesos de consumo popular del tipo Gouda.

El CUADRO 3 muestra como principal país de origen de queso a Argentina con un 93,55% de participación en el año 2006, seguido con un menor porcentaje por Brasil el cual tuvo una caída entre el año 2005 y 2006. Además, existe presencia de Dinamarca y Uruguay entre otros (ODEPA, 2006). Según

FEDELECHE (2006), el aumento en las importaciones desde Argentina es en perjuicio de la participación relativa que tenían Uruguay y Brasil.

CUADRO 3 Importación de queso Gouda por país de origen (Kg).

País de origen	Año 2005	Año 2006	Participación 2006 (%)
Alemania	2.176	0	0,00
Argentina	3.259.461	4.104.898	93,55
Brasil	351.927	177.986	4,10
Dinamarca	0	1.454	0,03
Uruguay	95.000	96.121	2,20
Los demás	10.122	1.474	0,03
TOTAL	3.718.687	4.387.934	100

Fuente: ODEPA (2006).

2.2 Zonas de elaboración. Según ODEPA (2005), las regiones elaboradoras de queso son la Metropolitana, VIII, IX y X divididas en tres zonas, la zona centro comprendida por la región Metropolitana, la zona centro sur por la región Octava y la zona sur que incluye la región Novena y Décima. Los volúmenes de producción por región se presentan en el CUADRO 4.

CUADRO 4 Producción en kilos y porcentaje de queso por región.

Región	Producción (Kg)	Participación (%)
Metropolitana	771.356	1,24
VIII	3.264.286	5,26
IX	839.389	1,35
X	57.196.516	92,15
Total	62.071.547	100

Fuente: ODEPA (2006).

De acuerdo a la información que procesa ODEPA (2006), durante 2006 funcionaron 26 plantas lecheras industriales, pertenecientes a dieciséis

empresas que operaron entre Santiago y Ancud. De ellas, cuatro eran cooperativas lecheras y las restantes, sociedades. Como se observa en el CUADRO 5, once empresas producían quesos, en trece plantas, y sólo seis de ellas producían quesillos.

En el CUADRO 5 se muestra que en el sector industrial existe una gran concentración en la producción de quesos. En efecto, en el año 2006 las cinco principales empresas elaboraron el 89,3% de todo el queso producido por la industria en el país. Destacó la Cooperativa Agrícola y Lechera de La Unión (COLUN), con una producción de casi 21.885 toneladas y un 35,3% del total de queso procesado a nivel industrial. La siguió la empresa Soprole, con 15.432 toneladas, que corresponden al 24,9%, y en tercer lugar se ubicó la empresa Cumelén-Mulpulmo, con 10.018 toneladas y un 16,1% del total producido (ODEPA, 2006).

CUADRO 5 Elaboración de quesos por las empresas lecheras en 2006.

Plantas	Quesos		Quesillos	
	Producción (kg)	Participación (%)	Producción (kg)	Participación (%)
COLÚN	21.885.806	35,3	2.253.085	24,8
Soprole	15.432.714	24,9	4.699.817	51,7
Cumelén-Mulpulmo	10.018.812	16,1		
Loncoleche	4.910.955	7,9		
Agrolácteos Cuinco	3.179.936	5,1	11.411	0,1
Lácteos Frutillar	2.283.356	3,7		
Quillayes	2.138.047	3,4	1.938.013	21,3
Chilolac	1.324.368	2,1		
Vialat	726.065	1,2	9.412	0,1
Surlat S.A.	113.324	0,2		
Vitalac	58.164	0,1	176.335	1,9
TOTAL	62.071.547	100,0	9.088.073	100,0

Fuente: ODEPA (2006).

También producen queso Chanco, de campo o mantecoso unas 100 empresas de tamaño pequeño y medio ubicadas de preferencia en la zona sur. En este

segmento de empresas artesanales, definido como elaboradoras de queso de campo, se habrían producido unas 12.500 toneladas en 2004, con una tendencia a la baja debido a los buenos precios pagados por la leche en la gran industria, que hacen más difíciles las compras de la industria artesanal en los meses de precios de excedente. Estos quesos de campo se destinan principalmente al consumo local y nacional (ESNAOLA, 2005)

2.3 Queso Chanco

2.3.1 Definición. El Reglamento Sanitario de los Alimentos (R.S.A.) (CHILE, 2000), define queso como el producto madurado o sin madurar, sólido o semisólido, obtenido coagulando leche, leche descremada, leche parcialmente descremada, crema, crema de suero, suero de queso o suero de mantequilla debidamente pasteurizado o una combinación de estas materias, por la acción de cuajo u otros coagulantes apropiados (enzimas específicas o ácidos orgánicos permitidos), y separando parcialmente el suero que se produce como consecuencia de tal coagulación.

BRITO (1986), indica que el queso tipo Chanco también es llamado queso Chanco de fundo, queso Chanco de campo o simplemente queso mantecoso, es el típico queso chileno, elaborado en queserías artesanales o prediales desde tiempos remotos en nuestro país. ESNAOLA (2000), lo define como quesos semiduros, mantecosos, con cáscara firme y seca, de forma rectangular, con peso de 8 a 10 kilos y maduración entre 12 y 18 días.

2.3.2 Composición. Según la Norma Chilena Oficial 2090 (INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN, 1999) un queso Chanco tiene un contenido de humedad de 44,0% hasta 48,0%; contenido de materia grasa mínimo de 25% y pH 5,20 a 5,40. Además, indica sus requisitos organolépticos:

- Consistencia: semiblando, mantecoso
- Formas y pesos: este puede ser un bloque rectangular de 8 a 10 kg, bloque cuadrado o rectangular de 1 a 4 kg o cilíndrico de 1 a 6 kg
- Debe presentar lados ligeramente convexos, con cáscara fina, seca y lisa de color exterior amarillo a amarillo pálido
- Color masa interna: blanco cremoso o amarillo muy suave y homogéneo
- Textura: abierta con abundantes ojos mecánicos o irregulares distribuidos uniformemente en la masa del queso

2.4 Transformaciones químicas y físicas durante la maduración del queso

La maduración incluye todos los cambios químicos y físicos ocurridos en el queso después de su elaboración. El desarrollo de las características y propiedades típicas de un queso son especialmente atribuibles a la conversión de lactosa, proteína, grasa y en algunos quesos de citrato (WALSTRA *et al.*, 1999).

2.4.1 Proteólisis. Según BRITO (1993), es el evento más importante y primario de la maduración, donde la caseína insípida e insoluble, retenida en la cuajada, se hidroliza enzimáticamente dando origen a compuestos sápidos más simples y que son solubles en agua.

La degradación de las proteínas es realizada por el cuajo que es una peptidasa (quimosina) que actúa en primer lugar hidrolizando la caseína κ . La ruptura se produce a nivel del enlace fenilalanina - metionina formándose paracaseína κ y glicomacropéptido. La reacción secundaria consiste en la formación de un gel continuo resultante de la desestabilización de las micelas. En esta etapa el fosfato cálcico desempeña un papel esencial en la formación de los enlaces entre las micelas, condición indispensable para la firmeza del gel (AMIOT, 1991).

La más abundante de las caseínas es la α , existiendo a su vez cuatro variantes de ésta, según el número de aminoácidos de la cadena. Cuando las micelas de caseína se rompen queda libre nitrógeno, que puede ser utilizado como sustrato para las enzimas intracelulares de la microflora del queso (MADRID, 1990), produciéndose aromas y sabores especialmente proveniente de los aminoácidos y sus productos de descomposición como ácidos, aminos y amoníaco (ALAIS, 1985).

Las etapas de la proteólisis de acuerdo a NANA y FARKIE (2004) son:

- hidrólisis inicial de las caseínas para formar péptidos
- rompimiento de los péptidos por proteinasas y peptidasas iniciadoras dando formación a pequeños péptidos
- hidrólisis de los pequeños péptidos por peptidasas iniciadoras en dipéptidos, tripéptidos y aminoácidos libres.

2.4.2 Lipólisis. La lipólisis ocurre en todos los tipos de quesos, dando como resultado ácidos grasos de cadena corta, los cuales al ser liberados contribuyen directamente al sabor de los quesos. En la mayoría de las variedades, la lipólisis está bastante limitada y es causada principalmente por la actividad lipolítica de las bacterias ácido lácticas, aunque también existen otras fuentes que contribuyen a este proceso degradativo; entre ellas preparados de cuajo, iniciadores, iniciadores adjuntos, bacterias no iniciadoras, y lipasas exógenas, con una contribución de las lipasas de la leche nativa, sobre todo en queso elaborado de leche cruda (FOX y McSWEENEY, 1998; McSWEENEY y SOUSA, 1999).

2.4.3 Descomposición de la lactosa. Durante el proceso de elaboración se produce la fermentación de la lactosa para obtener ácido láctico en una proporción variable según el tipo de queso. La mayor parte de la lactosa que no se transforma se elimina con el lactosuero. Casi todo el proceso

fermentativo de la lactosa lo llevan a cabo las bacterias lácticas homofermentativas (AMIOT, 1991). Generalmente, este proceso se realiza en forma rápida durante las primeras 24 horas, y se extiende por alrededor de las dos primeras semanas de maduración en forma más desacelerada hasta la desaparición casi completa de la lactosa (BRITO, 1993).

Según ALAIS (1985), las funciones de la glicólisis en la maduración son las siguientes:

- influencia en el aroma
- protección del medio por el descenso rápido de pH (impide el desarrollo de especies fuertemente proteolíticas, inhibe lipasas y proteasas)
- modifica la textura por la solubilización de los minerales ligados a la caseína nativa

El ácido láctico resultante de la fermentación de la lactosa también sufre modificaciones. Normalmente se combina con el calcio del lactosuero para formar lactato. En los quesos ácidos de pasta blanda, es consumido por las levaduras y los mohos, lo que produce una disminución de la acidez. El ácido láctico o su lactato se pueden descomponer por fermentación en ácido propiónico, ácido acético y CO₂, como en el caso del Gruyère. También pueden servir de sustrato para la fermentación butírica, especialmente para *Clostridium tirobutyricum* que en su metabolismo produce ácido acético, ácido butírico, CO₂ e hidrógeno, alterando el aroma del queso y causando su hinchamiento (AMIOT, 1991).

2.4.4 Cambios en las características organolépticas durante la maduración

El sabor y aroma de cualquier tipo de queso, resulta de la mezcla equilibrada de compuestos presentes en la cuajada fresca y los originados de la degradación enzimática de uno o más constituyentes del queso durante su

maduración. El contenido de sal y ácido láctico solo son el punto de partida para el sabor típico del queso, influyendo directamente los productos de la degradación del ácido láctico, lactatos, citratos, proteínas y grasa. La determinación del color de los quesos, en evaluación sensorial, se refiere en primer lugar a determinar su homogeneidad o ausencia de ella en los quesos, aunque obviamente debe haber identificación del color preciso del producto (BRITO, 1990).

FERNÁNDEZ *et al.* (2002), indicaron que durante la maduración del queso cientos de compuestos químicos se acumulan lo que contribuye por diferentes vías al sabor de éste, y Chapman *et al.*, citado por BRITO (1993), señalan que la degradación de los lípidos es parcial, aunque sus productos son de importancia en el sabor y aroma del queso (ácido butírico, caprónico, caprílico).

BRITO (1993), señala “que el origen del sabor típico de un queso, se debe generalmente a la interacción de muchos y diferentes componentes derivados de los procesos glicolíticos, y proteolíticos ocurridos tanto en el procesamiento como en la maduración del queso”.

Según MCSWEENEY (2004), la proteólisis tiene una influencia directa sobre el sabor a través de la producción de cadenas cortas de péptidos y aminoácidos algunas de las cuales dan sabor (a veces amargo), además facilita la liberación de componentes sápidos desde la matriz de queso, lo que es importante, ya que provee aminoácidos libres, como sustratos para una serie de reacciones catabólicas que generan importantes componentes que aportan a las características sensoriales.

Hay muchos factores que influyen en el aroma final de una variedad particular de queso, incluyendo el origen de la leche, tratamiento térmico, tipo y cantidad de cultivos lácteos adicionados, condiciones de elaboración y tiempo y

temperatura de maduración. El aroma está determinado principalmente por los componentes volátiles que se liberan en la cuajada durante su maduración. Entre estos compuestos se encuentran los ésteres, ácidos grasos, aldehídos, cetonas, alcoholes, aminas, anhídrido sulfuroso y amoníaco. De ellas, aldehídos, cetonas y alcoholes son probablemente los más importantes (SCOTT, 1991; FERNÁNDEZ *et al.*, 2002).

Según BEN LAWLOR *et al.* (2001), el atributo olor de los quesos de tipo Suizo está asociado con los ésteres, compuestos derivados de la lipólisis y también por un bajo contenido de sal. Sin embargo, indican que puede notarse que los ácidos grasos libres, que son los precursores de los ésteres, pueden ser sintetizados por la microflora del queso o como resultado de la degradación de los aminoácidos. Además, determinaron que el atributo textura (cuerpo) para queso Gruyère y algunos de tipo suizos, fue positivamente asociada con el contenido de proteína y calcio y de forma negativa con el contenido de humedad, sal y pH.

2.5 Alteraciones microbiológicas que afectan los quesos

Según BRITO *et al.* (1985), para obtener quesos de buena calidad microbiológica, se debe controlar los siguientes factores:

- calidad de la materia prima usada en el proceso (leche y aditivos)
- calidad higiénica de los equipos y buen manejo del proceso de elaboración
- control ambiental del lugar de procesamiento
- manipulación higiénica por parte del personal de elaboración
- adecuado almacenamiento del producto terminado

En los quesos pueden presentarse diversos defectos del sabor, siendo los más importantes el amargor y la rancidez; muchos de estos defectos se deben a microorganismos. Durante la elaboración no suelen surgir problemas si se

utilizan cultivos iniciadores de buena calidad y se mantiene un alto nivel higiénico (HAYES, 1993), además, PASCUAL (1983), señala que una pasteurización deficiente acarrea riesgos de fermentaciones anormales, con hinchazones tempranas en el queso y sabor anormal, provocado por los coliformes.

2.5.1 Hinchazón de los quesos. La presencia de gas en el queso, comúnmente conocido como hinchazón se puede deber a la utilización de leche cruda contaminada por coliformes o por bacterias ácido butíricas, que trae como consecuencia fermentaciones indeseables, dando origen a agujeros de gas y sabores desagradables (POLYCHRONIADOU, 2001).

SORIA (1983), indica que *E. coli* es una de las principales bacterias responsables de la hinchazón temprana, que es la aparición de ojos de pequeño diámetro, de cavidad lisa y brillante. Este defecto es debido a la fermentación de la lactosa con formación de gas.

La hinchazón tardía del queso en las salas de maduración es causada principalmente por las bacterias esporuladas anaerobias del género *Clostridium*, teniendo como resultado la fermentación del lactato de calcio con la producción de ácido butírico, acético y gases como hidrógeno y anhídrido carbónico (POLYCHRONIADOU, 2001), provocando en algunos quesos cavidades con 10 cm o más de diámetro, que pueden ocasionar grietas en la superficie del queso (FAO, 1983).

2.5.2 Crecimiento de mohos. Los quesos de cuerpos débiles que desarrollan grietas y fisuras, debido una elaboración incorrecta, pueden infectarse con mohos, normalmente *Penicillium* spp. y las condiciones aeróbicas causadas por estas grietas permiten el crecimiento y la penetración hacia la masa del queso (ROBINSON, 1981).

2.5.3 Putrefacción. Se caracteriza este defecto por la aparición de coloraciones blanquecinas o color ceniza oscuro, el queso presenta una consistencia más blanda de lo normal, un sabor muy desagradable y un olor nauseabundo, causada por organismos contaminantes (BRITO, 1986).

2.6 Microorganismos indicadores y su efecto en los quesos

2.6.1 Tratamiento térmico y contenido de fosfatasa alcalina en los quesos.

La pasteurización es el principal tratamiento térmico que pretende la destrucción de *Mycobacterium tuberculosis* en los productos lácteos. La pasteurización no destruye todos los microorganismos, aunque reduce mucho su número y en muchos casos no destruye los microorganismos esporulados. La principal finalidad de la pasteurización es destruir las bacterias patógenas que eventualmente se pueden encontrar en la leche. El tratamiento de pasteurización se aplica también por razones técnicas como la de destruir, al menos en parte, la flora indeseable de la leche que puede producir defectos en el queso (AMIOT, 1991).

La contaminación presente en la leche antes de su tratamiento térmico depende de la eficacia de las medidas higiénicas aplicadas durante su producción, así como de las condiciones de su transporte y almacenamiento. La proliferación de una especie determinada depende de la proximidad de su temperatura óptima de crecimiento a la temperatura de almacenamiento. Si el tratamiento térmico ha sido eficaz, el número de microorganismos se reduce en un 92-99%. Por lo tanto, si la contaminación inicial era elevada, el número de microorganismos sobrevivientes después del tratamiento será también alto (SCOTT, 1991).

Como indicador de tratamiento térmico se utiliza la enzima fosfatasa alcalina, la cual cataliza los esteres fosfóricos. Generalmente, la determinación de la actividad de la fosfatasa alcalina es aplicada como un chequeo de la intensidad

de la pasteurización de la leche. La inactivación de la enzima asegura que todos los microorganismos patógenos presentes en la leche han sido eliminados durante el tratamiento (WALSTRA *et al.*, 1999).

Para la prueba de la fosfatasa alcalina se han propuesto diversos sustratos, pero el más utilizado es el fenilfosfato disódico, en cuya hidrólisis se libera fenol que es un compuesto fácil de medir (AMIOT, 1991).

BARRIA (1995), basó su estudio en los siguientes límites en el contenido de fosfatasa alcalina en el queso Chanco, determinado en leche fluida, con valores $\leq 4,38 \mu\text{g fenol}/0,25 \text{ g}$ de muestra consideró que el queso estaba elaborado con leche pasteurizada y valores $> 4,38 \mu\text{g fenol}/0,25 \text{ g}$ de muestra fue elaborado con leche cruda o un tratamiento térmico inferior a la pasteurización.

2.6.2 Enterobacterias. Las enterobacterias han sido relacionadas con defectos en la textura y sabor de quesos como la hinchazón temprana, su contenido en queso elaborado con leche cruda puede exceder los 10^7 ufc/g durante la primera semana de maduración, y después usualmente disminuye en un rango variable dependiendo de las características fisicoquímicas del queso (MORALES *et al.*, 2004).

AMIOT (1991), indica que la presencia de coliformes en el producto terminado no plantea únicamente problemas higiénicos. Estos microorganismos pueden ser también el origen de hinchamientos y defectos del gusto en los quesos, que principalmente aparecen cuando la acidificación es escasa.

2.6.3 *Escherichia coli*. Es un bacilo gram negativo, la bacteria anaerobia facultativa más abundante en el intestino grueso del ser humano. Es capaz de fermentar la lactosa, incapaz de utilizar el ácido cítrico como fuente de carbono y convierte el aminoácido triptofano en indol. Esta bacteria coliforme es usada

como indicador de condiciones sanitarias deficientes en alimentos. Su presencia en leche indica posible contaminación con materiales como estiércol, tierra o agua contaminada (MARTH y STEELE, 1998; INGRAHAM e INGRAHAM, 1998).

2.6.4 *Staphylococcus aureus*. Es un importante patógeno de los seres humanos, que causa una gran variedad de síndromes clínicos. Los estafilococos son inusualmente resistentes a cambios ambientales tales como el calor, la desecación y el aumento en la presión osmótica, lo que les permite el sobrevivir en la piel y en muchos alimentos que contienen una elevada concentración de sal o de azúcares (INGRAHAM e INGRAHAM, 1998). Según MARTH y STEELE (1998), *S. aureus* es el más común agente responsable de la mastitis clínica, es una bacteria gram positiva, cocácea inmóvil que crece agrupándose en racimos.

La presencia del microorganismo en un alimento es usualmente tomado como indicador de contaminación por la piel, boca o nariz de los manipuladores de alimentos, por inadecuada limpieza de equipos o contaminación por alimentos crudos de origen animal (I.C.M.S.F., 1988).

2.6.5 Mohos. Los mohos son hongos filamentosos que crecen en forma de una masa enmarañada que se extiende rápidamente y puede cubrir varias pulgadas cuadradas de una superficie en 2 a 3 días. A la totalidad de la masa se le conoce como micelio el cual esta compuesto de ramificaciones o filamentos denominados hifas. Pueden crecer sumergidos en el alimento o superficialmente, en cuyo caso el crecimiento se caracteriza por aspecto vellosos o algodonoso (JAY, 2000; HAYES, 1993).

Según AMIOT (1991), en la mayor parte de los productos lácteos la presencia de levaduras y de mohos es indeseable y denota una falta de higiene. No

obstante, algunas especies tienen una acción beneficiosa en la maduración de determinados tipos de quesos y en las transformaciones del lactosuero.

2.6.6 Levaduras. Estas pueden ser diferenciadas de las bacterias por el mayor tamaño de sus células y por la forma ovalada, alargada, elíptica o esférica de las mismas. Las células típicas de las levaduras tienen un diámetro que varía entre 5 y 8 μm , siendo algunas incluso de mayor tamaño (JAY, 2000).

Crece más rápidamente que los mohos pero frecuentemente en conjunto con ellos. Considerando que los mohos son aerobios estrictos, las levaduras generalmente crecen con o sin oxígeno, aunque más rápidamente y con una población más numerosa en presencia de oxígeno (I.C.M.S.F., 1988).

2.7 Normativa chilena para quesos

El R.S.A. (CHILE, 2000), especifica los parámetros microbiológicos para quesos madurados los que se presentan en el CUADRO 6. Las características fisicoquímicas establecidas en la Norma Chilena 2090 (CHILE, 1999) se presentan en el CUADRO 7.

CUADRO 6 Parámetros microbiológicos para quesos madurados

Parámetro	Plan de muestreo			Límite por gramo		
	Categoría	Clases	n	c	m	M
Enterobacteriáceas	5	3	5	2	2×10^2	10^3
<i>S. aureus</i>	5	3	5	1	10^2	10^3
Salmonella en 25 g	10	2	5	0	0	-

Fuente: CHILE, MINISTERIO DE SALUD (2000).

CUADRO 7 Características fisicoquímicas del queso Chanco madurado (20 días).

Parámetro	Queso Chanco
Humedad (%) m/m	44-48
Materia seca (%) m/m	52-56
Materia grasa (%) m/m	25
Materia grasa en e. s. (%) m/m, mín.	45
Humedad en queso sin grasas (%) m/m, mín.	58-66
pH	5,2-5,4
Nitrato (%) m/m, máx.	50 mg/kg
Fosfatasa	Negativa

Fuente: CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION (1999).

3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Origen de las muestras

Las muestras de queso Chanco provenían de las regiones Metropolitana, Octava y Décima. El estudio microbiológico, químico y sensorial se realizó en los laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), de la Universidad Austral de Valdivia, durante los meses Junio, Julio y Agosto de 2005, como parte del proyecto FONDECYT 1030345 (2003-2005).

El número de muestras se determinó considerando el volumen de producción de cada una de las zonas, por lo tanto, de la décima región se tomó un número mayor de muestras. La selección de las marcas analizadas se realizó mediante un estudio previo de las empresas productoras típicas de cada zona, tomando en cuenta que fueran de nivel semi-industrial a industrial (FIGUEROA, 2006).

3.1.1 Número de marcas por región. El número de empresas por región es en proporción al volumen de queso producido. Por lo tanto, en la Metropolitana se tomaron 6 marcas, octava 5 y en la décima 9 marcas.

3.1.2 Frecuencia y forma del muestreo. Las muestras se compraron en un supermercado en cada región y se trasladaron hasta el ICYTAL en cajas a temperatura ambiente por bus. La frecuencia del muestreo fue mensual para cada región, es decir, una región por semana durante el mes, teniendo el estudio una duración de 3 meses, con un total de 60 muestras, como se explica en el CUADRO 8.

CUADRO 8 Frecuencia de muestreo.

Origen (Región)	Nº de marcas (Empresas)	Frecuencia (Mensual)	Nº de muestreos	Total de muestras
Metropolitana	6	1	3	18
VIII	5	1	3	15
X	9	1	3	27
Total	20	1	3	60

Fuente: FIGUEROA (2006).

3.2 Toma de muestra

Los trozos de quesos tenían en promedio una dimensión de 25 x 10 cm aproximadamente, correspondiente a una esquina del queso completo, el trozo rectangular tenía seis caras y 4 estaban cubiertas por la cáscara. Las muestras para el análisis microbiológico se tomaron con un sacabocado estéril (flameado con alcohol de 90°) de una de las caras con cáscara, como se muestra en la. Se sacaron tres a cuatro trocitos hasta completar 10 g de queso. Para el análisis químico se tomó un trozo de 10 g y la evaluación sensorial se realizó como se explica posteriormente (FIGURA 1).

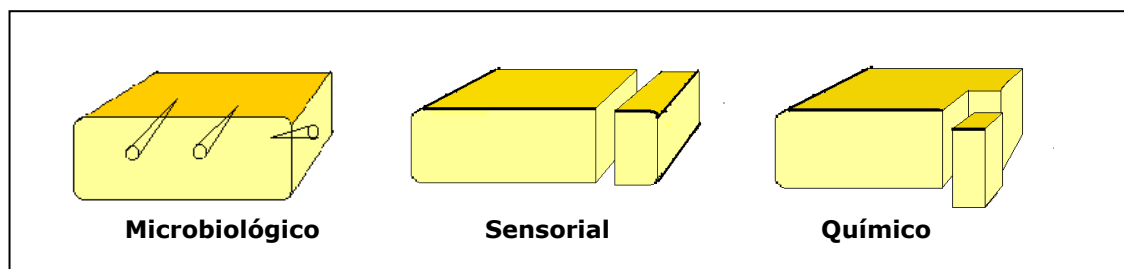


FIGURA 1 Esquema de toma de muestras en el queso.

3.3 Análisis microbiológico.

3.3.1 Preparación de la muestra. Se homogeneizaron 10 g de muestra en 90 ml de buffer citrato de sodio al 2% obteniendo la dilución 10^{-1} . De igual forma se realizaron las otras diluciones necesarias (A.P.H.A., 1992).

3.3.2 Recuento de enterobacterias. Método descrito por la I.C.M.S.F. (1988).

3.3.3 Confirmación de *Escherichia coli*. Método descrito por la I.C.M.S.F. (1988).

3.3.4 Recuento de *Staphylococcus aureus*. Método descrito por la I.C.M.S.F. (1988).

3.3.5 Recuento de mohos y levaduras. Método descrito por la A.P.H.A. (1992).

3.4 Análisis químico

3.4.1 Determinación de tirosina soluble en TCA. Método descrito por Samples *et al.*, y citado por BARRIA (1995) (ANEXO 1).

3.4.2 Determinación de fosfatasa residual. Método A.O.A.C., citado por PINTO (1998) (ANEXO 1).

3.5 Evaluación sensorial

3.5.1 Selección del panel. El panel estuvo compuesto por estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos y personal del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, por lo tanto con cierta experiencia en la participación de paneles sensoriales. Previamente se les instruyó sobre los aspectos que tendrían que evaluar en los quesos para que pudieran identificar los posibles defectos y las características propias de un queso Chanco. La

evaluación se realizó semanalmente con 10 panelistas o jueces en el horario de 15:30 a 16:30h.

3.5.2 Preparación de las muestras. Se trozaron las muestras en cubos de aproximadamente 1 cm por lado, se colocaron en platos blancos y se codificaron al azar. A cada juez se le entregó un plato y las cartillas de evaluación compuesta por un test descriptivo y una escala hedónica (ANEXO 2).

3.5.3 Test descriptivo. Es un test de valoración, los cuales tienen por finalidad evaluar productos con rapidez de acuerdo a su calidad. Estos métodos son útiles cuando se trata de evaluar en corto tiempo un número grande de muestras las que se valoran de acuerdo a una escala de calidad (WITTIG, 1982).

3.5.4 Escala hedónica. Es un test de preferencias donde la evaluación del alimento se basa en la medida de una reacción humana. Se pide al juez que después de su primera impresión responda cuanto le agrada o desagrada el producto de acuerdo a una escala que tiene 9 puntos, por lo cual por ser demasiado extensa se puede acortar a 7 ó 5 puntos, dependiendo del nivel de entrenamiento de los panelistas (WITTIG, 1982).

3.5.5 Descripción de los atributos que se evalúan. Se describen en el ANEXO 3, el cual es entregado a los panelistas al momento de la evaluación.

3.6 Análisis de datos

Los datos obtenidos en los análisis microbiológicos se transformaron en \log_{10} para el análisis estadístico. A los recuentos negativos (<10 ufc/g de queso), se le asignó el valor de 9 para su transformación a log para incluirlos en el análisis

de datos y además los resultados se compararon con las especificaciones del R.S.A. (CHILE, 2000).

Los resultados microbiológicos y químicos se evaluaron con el software Statgraphics 5.1, se determinó la homogeneidad de varianza con el test de Bartlett para aplicar el análisis de andeva y determinar la existencia de diferencias significativas entre los datos. Posteriormente si correspondía, se aplicó un test de rango múltiple (Test de Tukey) para determinar donde existieron las diferencias.

En los resultados del análisis sensorial se aplicó el test de Kendall para determinar la homogeneidad de las respuestas de los jueces para cada uno de los atributos y luego se realizó el análisis de andeva para determinar si existieron diferencias significativas entre los datos para cada atributo evaluado. Posteriormente si correspondía, se aplicó un test de rango múltiple (Test de Tukey) para determinar donde existieron las diferencias.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados de análisis microbiológicos

En el análisis microbiológico se consideraron los microorganismos que especifica el R.S.A. (CHILE, 2000) para queso Chanco madurado, realizando el recuento de enterobacterias y *Staphylococcus aureus*, y además los recuentos de *Escherichia coli* y mohos y levaduras, no señalados en la norma. Los recuentos obtenidos fueron transformados en log ufc/g (ANEXO 4).

4.1.1 Recuentos de enterobacterias y *Escherichia coli*. Según MORALES *et al.* (2004), un número considerable de quesos se elaboran con leche cruda en algunos países, ésta contiene un recuento variable de enterobacterias que depende de las condiciones higiénicas de animales y equipos de ordeña. La presencia de estos microorganismos en quesos es de gran preocupación para la industria láctea debido a los posibles peligros para la salud de los consumidores y su importancia tecnológica ya que un elevado recuento de enterobacterias puede producir defectos en las características organolépticas y físicas del queso.

El R.S.A (CHILE, 2000) establece en queso madurado para enterobacterias valores de $m < 2,0 \times 10^2$ ufc/g y $M > 10^3$ ufc/g. Para *E. coli* no hay especificación, por lo tanto, se utilizó como referencia lo aplicable a quesillo, queso fresco, queso chacra y queso suero, donde el valor m es $< 3,0$ ufc/g y M es de 10 ufc/g. Siendo México uno de los principales importadores de quesos desde Chile, cabe señalar que para el queso tipo Chester, con características similares a un queso tipo Chanco en composición (humedad 43%; grasa 28% y pH 5,5) y tiempo de maduración (mínimo de 15 días), las especificaciones

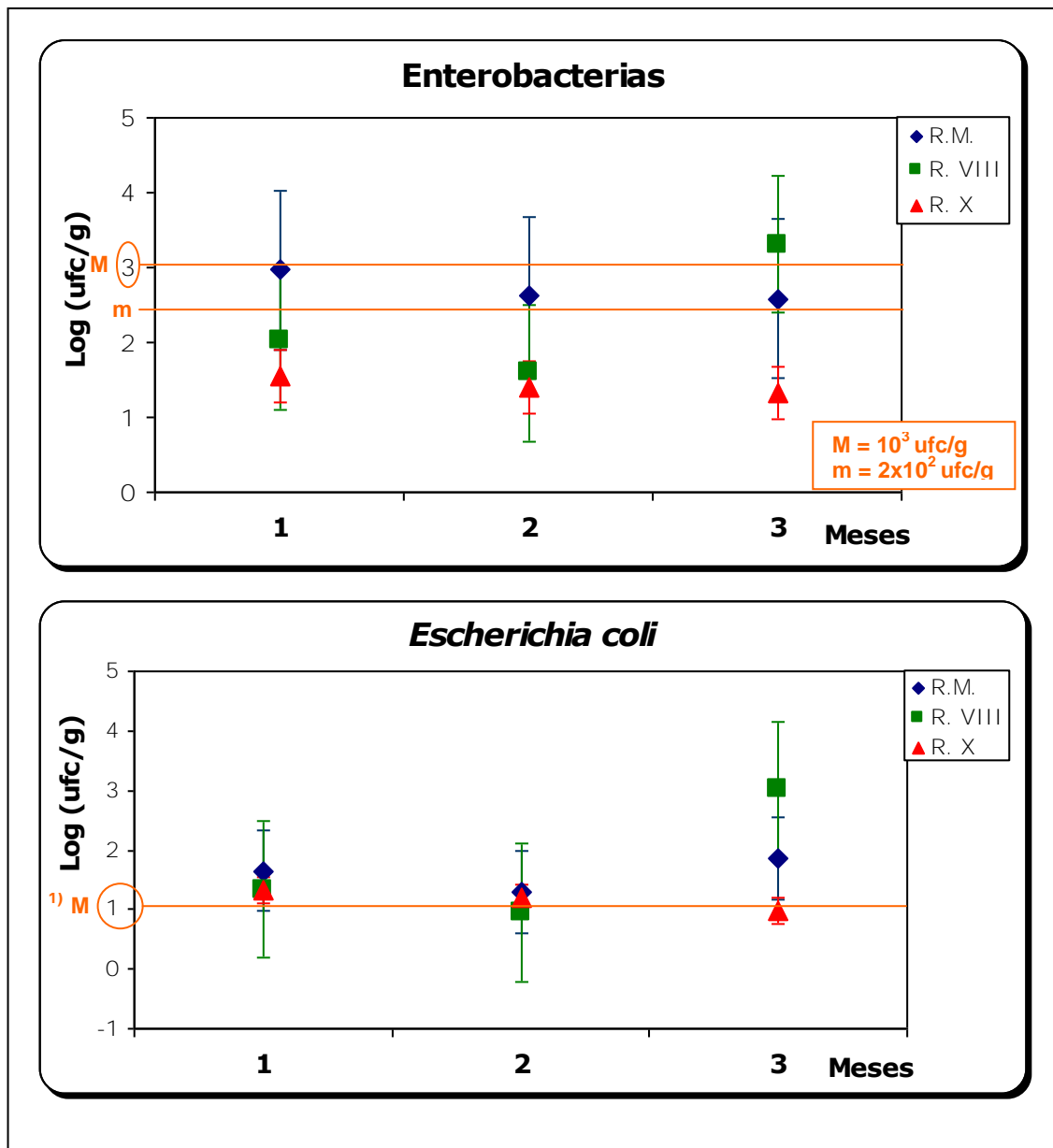
microbiólogas para *E. coli* son como límite máximo (M) 10^3 ufc/g (MEXICO, 1985a). Para otros tipos de quesos la normativa mexicana indica valores similares como por ejemplo, para queso tipo Patagrás (MÉXICO, 1985b) y Cheddar (MÉXICO, 1985c) un límite máximo de 10^2 ufc/g y para queso tipo Manchego (MÉXICO 1984), 10^3 ufc/g, valores altos comparados con la normativa chilena antes mencionada.

En la FIGURA 2, se presentan los promedios de los recuentos de enterobacterias y *E. coli* obtenidos para las muestras de las diferentes regiones y sus variaciones a través de los tres meses de estudio. Se puede apreciar, que el promedio de los recuentos de enterobacterias en la región Metropolitana y octava fue igual y superior al valor M (10^3 ufc/g) respectivamente, valor por sobre el cual el alimento representa un riesgo para la salud. Por lo tanto, en estas regiones hubo muestras que no cumplieron con la normativa vigente como también, muestras con recuentos que no superaron los 10 ufc/g. En el CUADRO 9 se puede apreciar los promedios de los recuentos de los quesos por región y marca donde queda reflejado que algunas muestras presentaron recuentos bajos para este microorganismo y por lo tanto, cumplieron con las exigencias del R.S.A. (CHILE, 2000) y en relación al recuento de *E. coli*, según la FIGURA 2 los tres promedios mensuales de la región Metropolitana sobrepasaron el valor M (10 ufc/g).

Para la octava región, en la FIGURA 2, se muestra que el promedio del tercer mes fue el recuento máximo tanto en enterobacterias como *E. coli* debido a que 3 de 5 marcas presentaron recuentos sobre 10^3 ufc/g, siendo la marca 5 la que tuvo el recuento máximo durante el periodo con $5,24 \times 10^5$ ufc/g para *E. coli* (ANEXO 4).

En la décima región, los promedios para enterobacterias durante los tres meses fueron menores que en las otras dos regiones al igual que en *E. coli* (CUADRO

9). Sin embargo, hubieron tres marcas que presentaron recuentos > 10 ufc/g, entre 11,75 y $2,5 \times 10^2$ ufc/g.



¹⁾ Limite de detección de la técnica de recuento en placa utilizada.

FIGURA 2 Promedio mensual de recuentos de enterobacterias y *Escherichia coli* de los quesos por región y su relación con valores M y m establecidos por el R.S.A. (CHILE, 2000).

CUADRO 9 Recuentos de enterobacterias y *E. coli* de los quesos por región (log ufc/g).

Enterobacterias					
Marca	Metropolitana	Marca	Octava	Marca	Décima
1	2,61 ± 1,46*	1	3,54 ± 0,67	1	0,97 ± 0,03
2	1,72 ± 1,34	2	1,00 ± 0,00	2	1,45 ± 0,60
3	4,29 ± 0,90	3	0,97 ± 0,03	3	1,42 ± 0,53
4	2,09 ± 1,44	4	2,99 ± 1,52	4	1,00 ± 0,00
5	4,11 ± 0,25	5	3,08 ± 2,40	5	1,00 ± 0,00
6	1,53 ± 0,97			6	1,07 ± 0,20
				7	2,61 ± 0,99
				8	2,42 ± 0,77
				9	1,00 ± 0,00
Escherichia coli					
Marca	Metropolitana	Marca	Octava	Marca	Décima
1	2,54 ± 1,42	1	1,84 ± 1,54	1	0,97 ± 0,03
2	1,00 ± 0,00	2	1,00 ± 0,00	2	1,38 ± 0,48
3	2,58 ± 1,44	3	1,00 ± 0,00	3	1,07 ± 0,20
4	1,64 ± 1,19	4	2,55 ± 1,46	4	1,00 ± 0,00
5	1,00 ± 0,00	5	2,54 ± 2,75	5	1,00 ± 0,00
6	1,00 ± 0,00			6	0,97 ± 0,03
				7	2,40 ± 1,26
				8	1,00 ± 0,00
				9	1,00 ± 0,00

*Promedio y desviación estándar de tres análisis por muestra.

Todas las marcas seleccionadas para esta evaluación tenían autorización del servicio de salud por lo tanto, están regidas por la normativa del Reglamento Sanitario. De acuerdo a esto, de las 20 marcas que se analizaron microbiológicamente, el 50% no cumplió con las especificaciones de dicho reglamento al presentar un recuento de *E. coli* mayor o igual a 10 ufc/g, respecto a lo establecido para quesillo y queso fresco, sin embargo, según la norma mexicana para queso tipo Chester (MEXICO, 1985), el 100% de las marcas cumplen con las especificaciones. Por ser éste un indicador de una posible contaminación de origen fecal, los quesos evaluados presentan un riesgo para la salud de los consumidores, por la posible presencia de

patógenos entéricos. FUENTES (2003), en un estudio sobre parámetros microbiológicos de queso tipo Gouda de una planta procesadora, encontró que el 44% de las muestras de queso con 28 días de maduración presentaron *E. coli*. El mayor porcentaje en el presente estudio, se pudo deber a que hubieron muestras que arrojaron un tratamiento térmico inferior a la pasteurización, lo cual permitió la sobrevivencia de este microorganismo indicador.

NOVELLA *et al.* (2002), en un estudio realizado a queso de cabra, encontraron que las enterobacterias no se detectan después de 30 días de maduración. Esto podría explicar en parte, la calidad microbiológica de los quesos de la décima región donde el tiempo de maduración fue más prolongado, superando los 25 días (FIGURA 8). Por otro lado, COPPOLA *et al.* (2000), en un estudio realizado en queso Parmigiano Reggiano, determinaron que después de 24 h de elaboración del queso ya no se encontraron enterobacterias lo que se pudo deber, indican, a la actividad antagónica o la competencia por los azúcares fermentables durante el proceso de elaboración ya sea con la microflora propia de la leche o los cultivos lácticos.

BÉERENS y NEUT (2005), indican que *E. coli* no permanece viable cuando el pH desciende de 5,0 durante la maduración del queso. En el caso de las muestras de queso analizadas, los pH variaron entre 5,3 y 5,7 para la región Metropolitana; entre 5,2 y 5,4 para la octava y entre 5,4 y 5,6 para la décima región (ANEXO 6), por lo tanto, estos pH favorecerían la sobrevivencia de microorganismos como *E. coli*. Por esto es importante la higiene y la pasteurización en el proceso de elaboración, para la eliminación de estos microorganismos y evitar la contaminación durante la elaboración con leche cruda, como también por parte de los manipuladores o utensilios.

El análisis estadístico (ANEXO 5), indicó que no existieron diferencias significativas entre las regiones para el recuento de enterobacterias ($p > 0,05$).

Esto se pudo deber a la gran diferencia obtenida entre los recuentos de las diferentes muestras para una misma marca, reflejada en la amplitud de la desviación estándar por lo que arrojó un promedio similar en todas ellas. Esta situación ocurrió principalmente en la Metropolitana y octava región, lo que reflejaría la variabilidad en las condiciones sanitarias de equipos, superficies y/o utensilios además de una posible deficiencia en los tratamientos térmicos durante el proceso de elaboración dentro de estas plantas. La misma situación se presenta para *E. coli* donde no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las regiones.

4.1.2 Recuentos de *Staphylococcus aureus*. Los resultados de este microorganismo se presentan en el CUADRO 10, los parámetros m y M especificados por el R.S.A. (CHILE, 2000) tienen valores de 10^2 y 10^3 ufc/g respectivamente. Según el análisis estadístico, existieron diferencias significativas entre las desviaciones estándar de las regiones por lo cual no se puede aplicar una andeva.

En la FIGURA 3 se observa que en la región Metropolitana, los recuentos promedios mensuales no sobrepasaron el valor m, sin embargo, en la marca 5 (CUADRO 10) el promedio fue superior a M con una desviación estándar baja, lo que indica que los recuentos fueron similares en los tres meses de estudio.

Al igual que la región Metropolitana, en la octava se presentaron recuentos promedios mensuales inferiores o iguales a m, aunque hubieron excepciones como la marca 5, que presentó un recuento de $6,5 \times 10^5$ ufc/g en el tercer mes (ANEXO 4), superando ampliamente el valor M. Según DIAZ y GONZALEZ (2001), cuando se confirma la presencia de alguna de las enterotoxinas en el alimento o éste tiene una carga del microorganismo igual o superior a 10^5 ufc/g, se estima que puede producir una intoxicación alimentaria.

En relación a la décima región, todas las muestras estuvieron bajo el límite de detección de la técnica de siembra en placa, por lo tanto, mantuvieron recuentos < 10 ufc/g, lo que indica que no hubo un riesgo para la salud en cuanto a este patógeno.

CUADRO 10 Recuentos de *S. aureus* de los quesos por región (log ufc/g).

Marca	Metropolitana	Marca	Octava	Marca	Décima
1	$1,02 \pm 0,11^*$	1	$1,52 \pm 0,99$	1	$1,00 \pm 0,00$
2	$1,89 \pm 1,63$	2	$1,00 \pm 0,00$	2	$1,00 \pm 0,00$
3	$1,83 \pm 1,52$	3	$1,00 \pm 0,00$	3	$1,00 \pm 0,00$
4	$1,00 \pm 0,00$	4	$1,63 \pm 1,18$	4	$1,00 \pm 0,00$
5	$3,38 \pm 0,65$	5	$2,57 \pm 2,81$	5	$1,00 \pm 0,00$
6	$1,28 \pm 0,57$			6	$1,00 \pm 0,00$
				7	$1,00 \pm 0,00$
				8	$1,00 \pm 0,00$
				9	$1,00 \pm 0,00$

*Promedio y desviación estándar de tres análisis por marca.

De las 20 marcas de queso estudiadas, considerando sus promedios durante los tres meses se encontró, en el 10% de ellas recuentos superiores a m (CUADRO 10). En un estudio realizado por DIAZ y GONZALEZ (2001) en queso blanco fresco, encontraron que de 70 muestras, el 69,4% contenía *S. aureus*. Los resultados de este trabajo indican que en esos quesos pudo haberse empleado materia prima contaminada y sin ningún tratamiento térmico durante el proceso, deficiente refrigeración en el producto terminado y ausencia de empaque acorde. Por otro lado FUENTES (2003), encontró en un estudio de calidad de queso Gouda que en el 24% de las muestras de queso hubo presencia de este microorganismo lo que se atribuyó principalmente a una contaminación por parte de los manipuladores, ya que el 90% de ellos era portador y con heridas en sus manos, los cuales tenían contacto directo con el producto y no utilizaban guantes, este factor puede ser una vía de

contaminación en la elaboración de los quesos estudiados por ser una parte de ellos de procedencia artesanal.

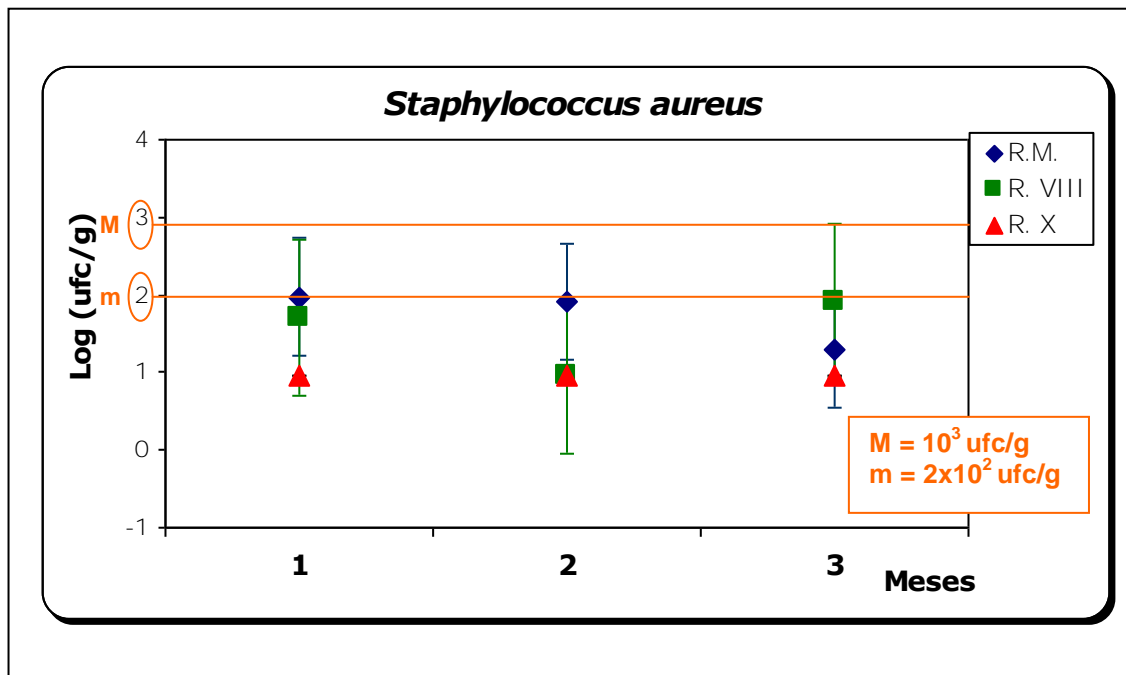


FIGURA 3 Promedio mensual de recuentos de *Staphylococcus aureus* de los quesos por región y su relación con valores M y m establecidos por el R.S.A. (CHILE, 2000).

4.1.3 Recuentos de mohos y levaduras. En el CUADRO 11 se presentan los resultados promedio de cada marca por región. En la región Metropolitana, se puede apreciar que los recuentos de mohos fueron más bajos que los de levaduras, se destacó la marca 5 que obtuvo el promedio más alto para ambos microorganismos ya que presentó en sus tres mediciones recuentos superiores a 10^3 ufc/g , y en mohos tuvo un recuento $> 10^2 \text{ ufc/g}$. En la FIGURA 4 se aprecian los promedios mensuales, donde la región Metropolitana estuvo por sobre las otras regiones en los dos últimos meses en los recuentos de ambos microorganismos.

CUADRO 11 Recuentos de mohos y levaduras de los quesos por región (log ufc/g).

Mohos					
Marca	Metropolitana	Marca	Octava	Marca	Décima
1	1,17 ± 0,38*	1	1,63 ± 1,14	1	0,97 ± 0,03
2	1,73 ± 1,30	2	0,98 ± 0,03	2	1,00 ± 0,00
3	2,16 ± 0,95	3	0,97 ± 0,03	3	1,00 ± 0,00
4	0,97 ± 0,03	4	0,81 ± 0,75	4	1,08 ± 0,19
5	2,50 ± 0,46	5	1,07 ± 0,20	5	1,00 ± 0,00
6	1,07 ± 0,20			6	1,73 ± 0,51
				7	0,97 ± 0,03
				8	1,00 ± 0,00
				9	0,97 ± 0,03
Levaduras					
Marca	Metropolitana	Marca	Octava	Marca	Décima
1	2,00 ± 0,39	1	3,01 ± 1,22	1	1,61 ± 0,66
2	2,29 ± 1,31	2	1,20 ± 0,35	2	1,00 ± 0,00
3	3,62 ± 0,80	3	2,29 ± 0,40	3	0,97 ± 0,03
4	1,43 ± 0,84	4	2,35 ± 0,08	4	1,85 ± 0,94
5	3,78 ± 0,51	5	1,93 ± 0,54	5	1,27 ± 0,50
6	1,33 ± 0,39			6	2,53 ± 0,74
				7	0,97 ± 0,03
				8	1,78 ± 0,16
				9	1,79 ± 0,74

*Promedio y desviación estándar de tres análisis por muestra.

En la octava región se presenta un recuento notoriamente inferior en mohos en comparación con la región Metropolitana, no así en levaduras que los recuentos son similares (CUADRO 11). En la FIGURA 4 destaca el segundo mes en el recuento de mohos donde los promedios de todas las marcas fue < 10 ufc/g. En los resultados de levaduras destacó la marca 1 con una primera medición de $2,4 \times 10^4$ ufc/g, lo que supera a cualquier otro recuento para este microorganismo.

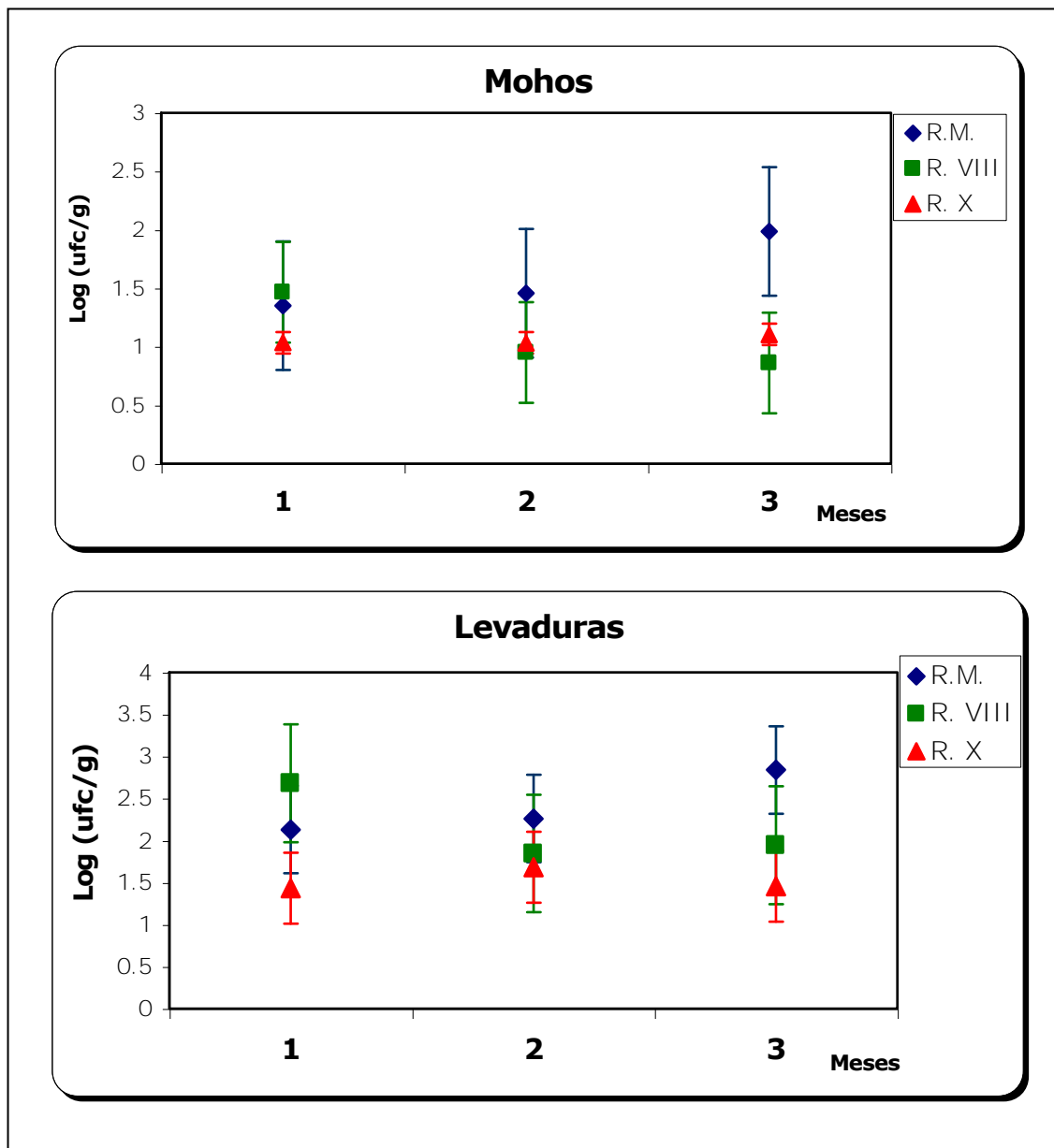


FIGURA 4 Promedio mensual de recuentos de mohos y levaduras en los quesos de cada región.

En la décima región se puede apreciar un recuento inferior en ambos microorganismos, comparadas con las demás regiones durante los tres meses,

manteniendo siempre la tendencia de tener un recuento mayor en levaduras, destacando la muestra 6 que mantiene un recuento similar ($> 10^2$ ufc/g) en las tres mediciones obteniendo un promedio mayor que las otras muestras.

Según AMIOT (1991), en la mayor parte de los productos lácteos la presencia de levaduras y de mohos es indeseable y denota una falta de higiene. No obstante, algunas especies tienen una acción beneficiosa en la maduración de determinados tipos de quesos y en las transformaciones del lactosuero. Esto no es aplicable al queso Chanco, por lo tanto la presencia de estos microorganismos es claramente por deficiencias higiénicas.

En las tres regiones hubo recuentos más elevados en levaduras en relación a los mohos, lo que concuerda con el estudio de DIAZ y GONZALEZ (2001), en el cual los mohos se presentaron con una frecuencia relativamente baja (26,36%), en relación a las levaduras (65,28%). Además señalaron que la alta frecuencia y contenido de levaduras, es indicativo de las fallas higiénicas, lo que influye junto con la alta carga bacteriana, en el rápido deterioro del producto ocasionando defectos en la cáscara, olores y sabores indeseables tal como quedó demostrado en la evaluación sensorial realizada y que se comentará más adelante.

En el análisis estadístico se determinó que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las regiones, en recuentos de mohos y levaduras.

4.2 Resultados del análisis de fosfatasa alcalina y tirosina soluble

4.2.1 Actividad de la fosfatasa alcalina. Los resultados de la determinación de fosfatasa alcalina residual se presentan en CUADRO 12. Se realizó el análisis estadístico el cual determinó que no se puede realizar análisis de

andeva ya que existieron diferencias significativas entre las desviaciones estándar para las regiones durante los meses de evaluación (Test de Bartlett $P < 0,05$).

CUADRO 12 Contenido de fosfatasa alcalina residual en queso Chanco por región.

$\mu\text{g}/0,25\text{g}$ queso						
Región	Marca	Mes			Promedio	Definición del parámetro
		1	2	3		
Metropolitana	1	32,6	22,0	15,9	$23,5 \pm 8,4^*$	No**
	2	46,5	3,8	20,6	$23,6 \pm 21,5$	No
	3	1,1	35,5	1,4	$12,6 \pm 19,8$	No
	4	5,9	4,7	3,1	$4,6 \pm 1,4$	No
	5	8,7	6,6	3,9	$6,4 \pm 2,4$	No
	6	5,1	4,6	2,1	$3,9 \pm 1,6$	Si
Octava	1	0,9	1,8	0,6	$1,1 \pm 0,6$	Si
	2	3,9	1,8	1,1	$2,3 \pm 1,4$	Si
	3	0,5	0,7	3,3	$1,5 \pm 1,6$	Si
	4	35,1	5,4	5,1	$15,2 \pm 17,2$	No
	5	2,9	5,6	35,8	$14,7 \pm 18,3$	No
Décima	1	0,4	0,9	0,5	$0,6 \pm 0,3$	Si
	2	0,4	4,5	0,6	$1,8 \pm 2,3$	Si
	3	1,8	2,2	0,5	$1,5 \pm 0,8$	Si
	4	4,1	3,4	1,9	$3,1 \pm 1,2$	Si
	5	0,9	1,4	0,4	$0,9 \pm 0,5$	Si
	6	2,3	1,2	0,3	$1,3 \pm 1,0$	Si
	7	2,3	2,5	1,9	$2,3 \pm 0,3$	Si
	8	0,9	1,0	0,8	$0,9 \pm 0,1$	Si
	9	1,3	1,4	0,3	$1,0 \pm 0,6$	Si

*Promedio de tres mediciones por muestra y su desviación estándar.

**No: quesos elaborados con leche con un tratamiento inferior a la pasteurización; Si: quesos elaborados con leche pasteurizada.

Como referencia se tomó el valor indicado por la Association of Analytical Chemists, citado por PINTO *et al.* (1998), para quesos, el cual es de $4\mu\text{g}$ fenol/0,25g de queso. Por lo tanto los resultados que superan dicho valor,

significa que los quesos fueron elaborados con leche con un tratamiento térmico inferior a la pasteurización.

En la región Metropolitana, todas las marcas presentaron al menos una muestra con valores sobre 4 μg fenol/0,25 g de queso. Lo cual, refleja la ausencia de pasteurización o subpasteurización de la leche. También hubo marcas donde la desviación estándar obtenida entre las tres mediciones fue elevada (marca 2 y 3), lo que representa la variabilidad del contenido de fosfatasa en los quesos. Esto significó recuentos microbiológicos altos por ejemplo de *S. aureus* el primer y segundo mes de las marcas 2 y 3 respectivamente, aunque también existieron recuentos altos para otros microorganismos, sin existir fosfatasa positiva, lo que se pudo deber a una contaminación del queso durante su elaboración o maduración, como ocurre con los mohos y levaduras.

En la octava región, fueron dos marcas las que presentaron fosfatasa alcalina sobre el límite, siendo la marca 5 la que se destaca en el tercer mes que coincide con la presentación de los recuentos más altos tanto en *S. aureus* como en *E. coli*. En la décima región de un total de 9 marcas el 77,8%, es decir 7, presentaron actividad de fosfatasa negativa y las restantes tuvieron una medición que sobrepasó levemente los 4 μg fenol/0,25g de queso. Lo cual refleja para esta región la práctica de utilizar leche pasteurizada en la elaboración de quesos lo que queda manifestado en su calidad microbiológica.

De un total de 60 muestras, el 32% (19 muestras) presentaron fosfatasa alcalina positiva (FIGURA 5), lo que indica la no pasteurización de la leche utilizada o la contaminación de ésta con leche cruda, no cumpliendo así con la normativa vigente. Las plantas de la región Metropolitana, probablemente no incluyen en sus procesos de elaboración la etapa de pasteurización de la leche o utilizan un tratamiento térmico menor, no siendo suficiente para desactivar la enzima y mucho menos para destruir los microorganismos presentes.

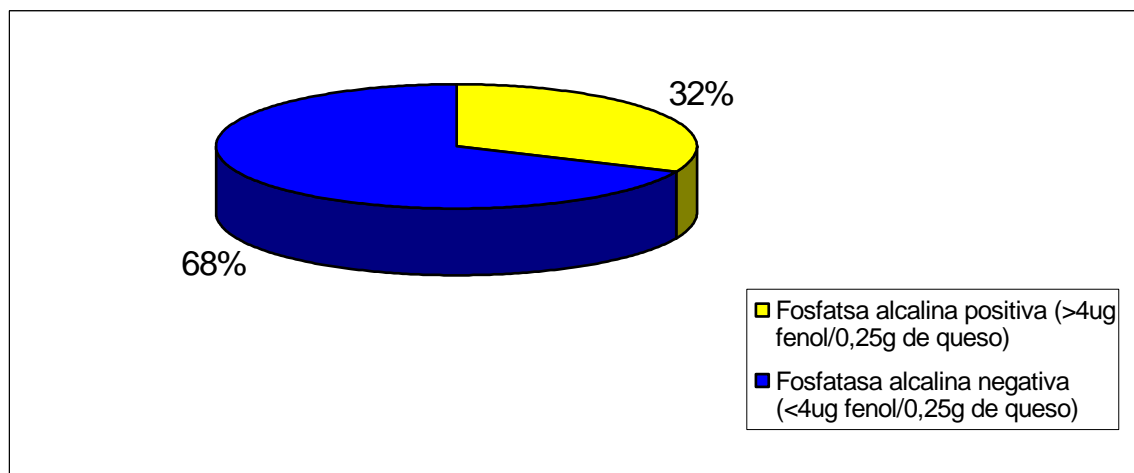


FIGURA 5 Distribución de las 60 muestras de queso Chanco de mercado, según el contenido de fosfatasa alcalina.

Una actividad de fosfatasa alcalina positiva, implica una alta probabilidad de sobrevivencia de patógenos en el queso. Es así como RAMSARAN *et al.* (1998), encontraron que en el queso elaborado con leche cruda el recuento de *Listeria monocytogenes* permaneció con el mismo nivel de recuento inicial durante 75 días. Sin embargo, en el estudio realizado por SCHÖBITZ *et al.* (2001), no se detectó la presencia de esta bacteria en quesos de campo vendidos en el comercio ambulante, elaborados de forma artesanal con leche cruda, cuyo pH, en el momento del análisis, alcanzaba valores entre 4,8 y 5,3 habiendo transcurrido entre 7 y 15 días desde su elaboración. Spahr y Url (1994) y Bachmann y Spahr (1995), citados por SCHÖBITZ *et al.* (2001), señalan que la rápida acidificación de la masa del queso por producción de ácido láctico es el principal factor responsable de la inhibición o destrucción de microorganismos patógenos.

Según BRAVERMAN (1980), el análisis fosfatasa alcalina es poco confiable dando casos de regeneración de algunas enzimas previamente inactivadas, que recuperan su actividad al cabo de un tiempo. Cuanto más corto es el

tiempo del tratamiento térmico mayor son las probabilidades de regeneración de la actividad enzimática.

4.2.2 Tiempo de maduración. Como tiempo de maduración, para este trabajo, se consideró, el tiempo transcurrido desde el terminó del proceso de elaboración hasta el momento de su compra en el supermercado.

Para determinar el tiempo de maduración del queso se cuantificó la tirosina soluble presente y se aplicó la ecuación de predicción de los días de maduración en función de la temperatura y tiempo de maduración, según lo planteado por MORALES (1993), para predecir las variaciones del contenido de tirosina soluble en queso Chanco elaborado con técnicas uniformes y controladas. La prueba fue utilizada en este estudio para estimar el tiempo de maduración en las muestras de queso. Para el cálculo se consideró que la temperatura promedio de maduración fue de 14°C (ANEXO 8).

El resultado del contenido de tirosina soluble en las muestras por región y la estimación del tiempo de maduración se presentan en el ANEXO 8. En la FIGURA 6, se presentan las mediciones del tiempo de maduración de cada marca por región durante los meses de evaluación. En la región Metropolitana, se puede apreciar que 12 mediciones no sobrepasaron los 15 días de maduración. En la octava región, se presenta una situación similar, aunque el tiempo de maduración se mantuvo alrededor de los 15 días. Según BRITO (1986), ello corresponde a un tiempo normal ya que el queso Chanco es un queso que tiene un tiempo relativamente corto de maduración, que varía entre los 12 y 25 días.

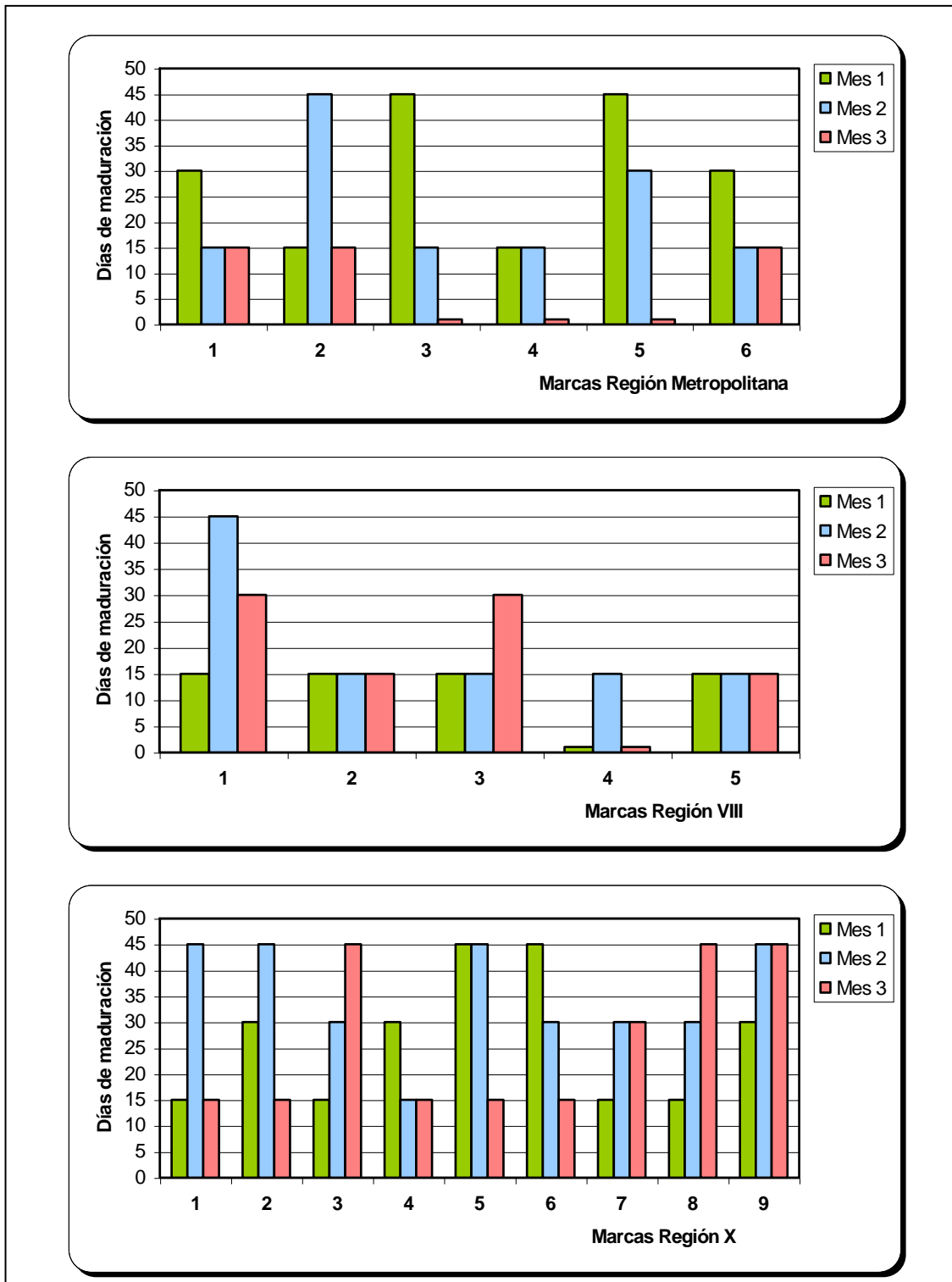


FIGURA 6 Tiempo de maduración, estimado según el contenido de tirosina soluble, de los quesos por región.

En la décima región, todas las mediciones arrojaron sobre 15 días de maduración, con un número considerable de mediciones que alcanzaron hasta los 45 días lo que es alto para un queso Chanco. Este aumento en los días de maduración influyó en las características organolépticas de los quesos, lo que queda reflejado en las evaluaciones sensoriales, al ser esta región la que presenta un mayor puntaje en apreciación general.

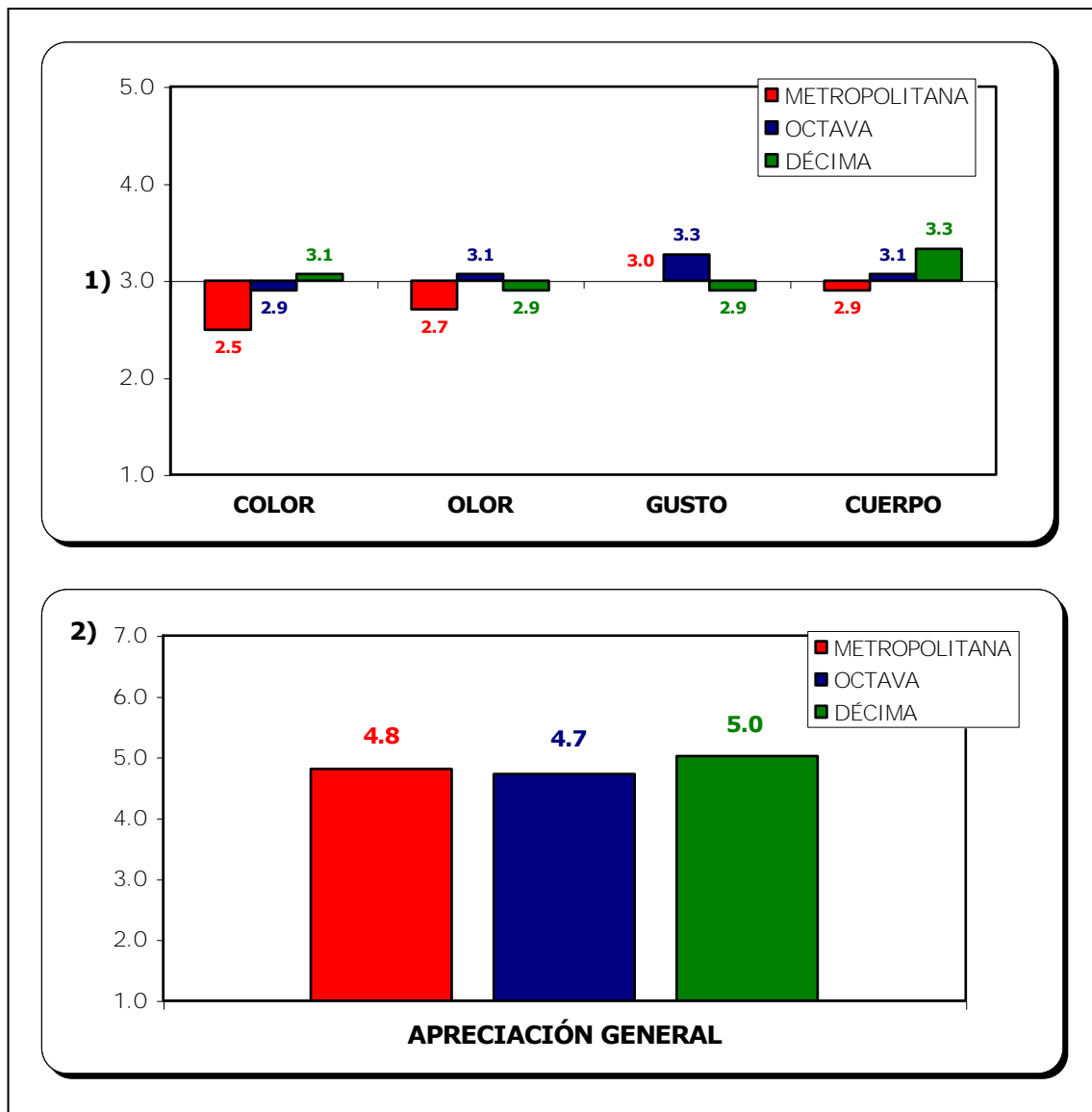
El análisis estadístico indicó que existieron diferencias significativas entre las regiones para tiempo de maduración y el test de Tukey mostró la presencia de 2 grupos (ANEXO 8), uno compuesto por la región Metropolitana y la octava, y otro por la décima región, esto se explica ya que la las dos primeras regiones presentan tiempos de maduración cercano a los 15 días, en cambio en la décima región todas las mediciones sobrepasan los 15 días y el 63% de ellas tuvo más de 30 días de maduración. Según BARRIA (1995), estas diferencias se pueden deber a las diversas condiciones empleadas en la elaboración y maduración de los quesos.

La ecuación de estimación de tiempo de maduración utilizada en este estudio, se consideró como temperatura promedio de maduración 14°C, a pesar que en general, el queso Chanco se madura a temperatura ambiente, que puede ser superior o inferior a 14°C, dependiendo de la estación del año y de la región. En relación a esto MORALES (1993), observó que un incremento en la temperatura de maduración aumentó el contenido de tirosina en quesos, con lo cual en la ecuación de estimación se obtiene un mayor tiempo de maduración.

4.3 Resultados Análisis Sensorial

Se evaluaron los atributos de color, olor, gusto, cuerpo y apreciación general para cada una de las marcas de quesos adquiridos durante 3 meses, la opinión de los 10 jueces se analizó mediante el test de Kendall, para determinar la

concordancia entre ellos. El único atributo en que no hubo concordancia fue en el olor (ANEXO 9). En la FIGURA 7 se presentan los resultados promedios de las muestras de los tres meses para las regiones en cada uno de los atributos evaluados.



1) Puntaje "normal" para los atributos color, olor, gusto y cuerpo

2) Puntaje "Me gusta extremadamente" para Apreciación general

FIGURA 7 Promedio general del análisis sensorial de los quesos por región, según test descriptivo y escala hedónica.

La maduración del queso involucra claramente una serie compleja de eventos interrelacionados, resultando en el desarrollo de las características organolépticas y textura típica de una determinada variedad de queso. A través de las vías bioquímicas, la lactosa, lactato, lípidos y caseínas son convertidos en componentes que aportan a las características sensoriales (MCSWEENEY, 2004). También, BONAITI *et al.* (2005), indicaron que la composición de la microbiota del queso, su evolución, su actividad durante la maduración, y la interacción entre los microorganismos juegan un rol importante en el desarrollo de la calidad sensorial del queso.

Los análisis estadísticos aplicados a los atributos indicaron que no existieron diferencias entre las regiones para los atributos color, gusto, cuerpo y apreciación general. Los promedios de los atributos sensoriales estuvieron cercanos al puntaje “normal” y en relación a la apreciación general, la región mejor calificada fue la décima con un promedio de 5 puntos (“me gusta levemente”). Los recuentos microbiológicos en la región estuvieron dentro de los valores aceptables por el R.S.A. (CHILE, 2000), lo que se debería en parte al uso generalizado de leche pasteurizada, como lo indica la determinación del contenido de fosfatasa alcalina. Además, los jueces evaluaron con mejores puntajes estos quesos debido a que tenían un mayor tiempo de maduración, por lo tanto, los atributos estaban más desarrollados y por tener baja carga microbiana, o ser elaborados con leche pasteurizada, no hubo un desarrollo notorio de olores y/o sabores indeseables. Esto no ocurrió en las regiones Metropolitana y octava donde la calidad microbiológica fue deficiente, con algunas excepciones, ya sea por una materia prima con alta carga microbiana, por un proceso de elaboración sin pasteurización de la leche, o ambos y a la vez potenciado por un corto tiempo de maduración de los quesos antes de salir al mercado, lo que derivó también, en un producto de pobres atributos organolépticos.

5 CONCLUSIONES

En relación al estudio realizado en quesos comerciales de tres regiones del país se pudo concluir lo siguiente:

- Los parámetros microbiológicos evaluados indicaron que las marcas de quesos comerciales de la décima región cumplieron con los niveles microbiológicos establecidos por la reglamentación sanitaria nacional. En la región Metropolitana y octava hubo marcas que arrojaron recuentos elevados de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, constituyendo un potencial riesgo para la salud de los consumidores.
- Los resultados microbiológicos tuvieron relación con los tratamientos térmicos aplicados a la leche, ya que las marcas de queso que presentaron un contenido de fosfatasa alcalina elevado, presentaron altos recuentos microbiológicos.
- Los quesos de la región Metropolitana y la octava presentaron un tiempo de maduración inferior a la décima, lo que influyó en el bajo desarrollo de los atributos sensoriales. En la décima región los tiempos de maduración superaron los 30 días en la mayoría de las marcas, obteniendo una mejor evaluación sensorial.

6 RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron las características microbiológicas, químicas y sensoriales de queso Chanco de mercado, procedente de distintas zonas del país. Se evaluaron 20 marcas comerciales obteniendo 3 mediciones (una por mes) para cada marca. Las regiones evaluadas fueron Metropolitana, octava y décima con 6, 5 y 9 marcas respectivamente. Los microorganismos analizados fueron enterobacterias, *E. coli*, *S. aureus*, mohos y levaduras. Se determinó el tiempo de maduración, por el contenido de tirosina soluble y tratamiento térmico de la leche utilizada para la elaboración de los quesos, mediante el contenido de fosfatasa alcalina. Además un panel de jueces evaluó sensorialmente los atributos de color, olor, gusto, cuerpo y apreciación general.

Para los microorganismos que representan un potencial riesgo para la salud de los consumidores, las muestras con recuentos $> M$ de *E. coli* fueron 27,8%, 26,7% y 25,9% para la región Metropolitana, octava y décima respectivamente y para *S. aureus*, el 22,2% y 6,7% para la región Metropolitana y octava respectivamente, la décima región no presentó recuentos. Las muestras que presentaron fosfatasa alcalina $> 4\mu\text{g}/0,25\text{g}$ de queso fueron de 66,7% y 33,3% para la región Metropolitana y octava respectivamente, en relación a la décima región que fue de sólo un 7,4%. En relación al tiempo de maduración, las muestras que no superaron los 15 días de maduración en la región Metropolitana y octava fue del 66,7% y 80% respectivamente, en cambio en la décima región el 62,9% de las muestras tuvo más de 30 días de maduración.

SUMMARY

In the present investigation, the microbiological, chemical and sensory characteristics of commercial Chanco cheese, from different geographic areas of the country, were evaluated. Twenty trademarks were evaluated obtaining 3 measures (one per month) for each trademark. The geographic areas evaluated were the Metropolitan, Eighth and Tenth regions with 6, 5 y 9 trademarks, respectively. The microorganisms analyzed were enterobacterias (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*), molds and yeasts. The time of ripening was determined by the content of soluble tyrosine and termic treatment of the milk used in the cheese elaboration was determined by the content of alkaline phosphatase. In addition, a panel of judges evaluated the color, smell, taste, body and general appeal attributes.

For the microorganisms that represent a potential risk for the health of the consumers, the samples with recounts > M of *E. coli* was 27,8%, 26,7% and 25,9% respectively for the Metropolitan region, octave and tenth and it stops *S. aureus*, 22,2% and 6,7% respectively for the Metropolitan region and octave, the tenth region didn't present recounts. The samples that presented alkaline fosfatasa > 4mg/0,25g of cheese were respectively of 66,7% and 33,3% for the Metropolitan region and octave, in relation to the tenth region that was of only 7,4%. In relation to the time of maturation, the samples that didn't overcome the 15 days of maturation in the Metropolitan region and octave was respectively of 66,7% and 80%, on the other hand in the tenth region 62,9% of the samples had more than 30 days of maturation.

7 BIBLIOGRAFIA

- ALAIS, CH. 1985. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 2da. Ed. Reverté. Barcelona. 873 p.
- AMIOT, J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche: Principios y aplicaciones. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 547 p.
- (APHA) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1992. Standard methods for the examination of dairy products. Robert T. Marshall (Editor). 16th Ed., Washington D.C. 546 p.
- ARTEAGA, M. 2004. Evolución de la maduración del queso Chanco elaborado con adición de suero en polvo. Tesis de Licenciado en Ingeniería en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile. 236 p.
- BARRIA, M. 1995. Características de composición, sensoriales y grado de maduración del queso Chanco de campo. Tesis de Licenciado en Ingeniería en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile. 126 p.
- BÉERENS, H. y NEUT, C. 2005. Usefulness of bifidobacteria for the detection of faecal contamination in milk and cheese. Lait, 85: 33–38.
- BEN LAWLOR, J., DELAHUNTY, C., WILKINSON, M. y SHEEHAN, J. 2001. Relationships between the sensory characteristics, neutral volatile

composition and gross composition of ten cheese varieties. *Lait*, 81: 487–507.

BONAITI, C., IRLINGER, F., SPINLER, H. y ENGEL, E. 2005. An Iterative Sensory Procedure to Select Odor-Active Associations in Complex Consortia of Microorganisms: Application to the Construction of a Cheese Model. *Journal of Dairy Science*, 88: 1671–1684.

BRAVERMAN, J. 1980. *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. 3^o Edición. Editorial Omega. 355 p.

BRITO, C.; JOFRE, M.; OETTINGER, G. y ESNAOLA, V. 1985. *Elaboración de queso Chanco a nivel predial: Curso de autoinstrucción. Proceso y equipamiento en elaboración de queso de Chanco de campo*. Centro Tecnológico de la Leche. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 154 p.

BRITO, C. 1986. *Manual de fabricación de queso Chanco con leche pasteurizada, para medianos productores*. Centro Tecnológico de la Leche. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 38 p.

BRITO, C. 1990. Cultivos lácticos. Su influencia sobre la calidad físico-organoléptica de los quesos. *Alimentos*, 15 (3): 61-65.

BRITO, C. 1993. Aspectos bioquímicos de maduración de quesos. *Alimentos*, 18 (4): 40, 49-55.

CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2000. *Reglamento Sanitario de los Alimentos*. D.S. N°977. Ed. Publibey. Santiago, Chile. 207 p.

- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION, INN. 1999. Norma Chilena NCh. 2090 Of 1999. Productos lácteos-Queso Chanco-Requisitos, Santiago, Chile. 6 p.
- COPPOLA, R., NANNI, M., IORIZZO, M., SORRENTINO, A., SORRENTINO, E., CHIAVARI, C. y GRAZIA, L. 2000. Microbiological characteristics of Parmigiano Reggiano cheese during the cheesemaking and the first months of the ripening. *Lait*, 80: 479–490.
- DIARIO DE LA PEQUEÑA Y MEDIANA EMPRESA (PYME). 2004. Exportación de queso chileno. Edición 8. Disponible en: <http://www.diariopyme.cl/newtenberg/1644/article-62518.html>. Revisado el 20/11/2006.
- DIAZ, C. y GONZALEZ, B. 2001. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. *Revista de Salud Publica*, 2(3).
- ESNAOLA, V. 2000. Situación del Mercado del Queso en Chile. Mercados Agropecuarios. ODEPA. Edición N° 92. 13 p.
- ESNAOLA, V. 2005. Situación del Mercado del Queso en Chile. Mercados Agropecuarios. ODEPA. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servlet/contenidos.ServletDetallesScr?idcla=2&idcat=7&idn=1670>. Revisado el: 20/11/2006.
- (FAO) ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. 1983. Tecnología y control de calidad de productos lácteos. Manual correspondiente

al módulo I. Tecnología y control de calidad de productos lácteos. Equipo de fomento y capacitación en lechería de FAO para América Latina. Santiago. Chile.

FEDELECHE. 2006. Informe de comercio exterior. Departamento de estudios. Disponible en: <http://www.fedeleche.cl/estd/coyuntura/coyuntura2005.pdf>. Revisado el 20/11/2006.

FERNÁNDEZ, E., CARBONELL, M. y NÚÑEZ, M. 2002. Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. Comparison of raw and pasteurized milk cheese. *Journal of Dairy Research*, 69: 579-593.

FIGUEROA, J. 2006. Perfil textural de queso Chanco comercial elaborado en tres regiones de Chile. Tesis de Licenciado en Ciencias de los Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile. 99 p.

FOX, P. y McSWEENEY, P. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Ed. Chapman y Hall. Blackie Academic Professional. London, UK. 478 p.

FUENTES, L. 2003. Estudio de parámetros microbiológicos que afectan la calidad de queso tipo Gouda. Tesis de Licenciado en Ingeniería en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile. 92 p.

HAYES, P. 1993. Microbiología e higiene de los alimentos. Ed. Acribia. S.A. Zaragoza, España. 369 p.

- INGRAHAM, J. e INGRAHAM, C. 1998. Introducción a la microbiología. Ed. Reverte, S.A. Barcelona, España. 328 p.
- (ICMSF) INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. 1988. Microorganisms in foods. 2ª Ed. University of Toronto Press. 436 p.
- JAY, J. 2000. Microbiología moderna de los alimentos. 4ª Edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 615 p.
- LONCOMILLA, P. 2004. Evolución de maduración de queso Chanco reducido en grasa, con incorporación de cultivo adjunto y homogeneización. Tesis para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 183 p.
- MADRID, A. 1990. Manual de tecnología quesera. AMV Ediciones, Madrid. Mundi-Prensa. 336 p.
- MARTH, E. y STEELE, J. 1998. Applied dairy microbiology. Ed. Marce Dekker, INC. Wisconsin, USA. 516 p.
- MCSWEENEY, P. 2004. Biochemistry of cheese ripening. International Journal of Dairy Technology, 57(2/3): 127-144.
- MCSWEENEY, P. y SOUSA, M, J. 1999. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. Le Lait: 292 - 321.
- MÉXICO. SECRETARÍA DE SALUD. 1994. Norma oficial mexicana nom-121-ssa1-1994, bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y

procesados. Especificaciones sanitarias. Disponible en:
<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/121ssa14.html>.
Revisado el: 09/09/2006.

MEXICO. SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL. 1984.
Alimentos-Lácteos-Queso tipo Manchego. Dirección general de
normas. NMX-F-462-1984. Disponible en:
<http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/NOM/NMX-F-462-1984.pdf>.
Revisado el: 20/04/2007.

MEXICO. SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL. 1985a.
Alimentos-Lácteos-Queso tipo Chester. Dirección general de
normas. NMX-F-471-1985. Disponible en:
<http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/NOM/NMX-F-471-1985.pdf>.
Revisado el: 20/04/2007.

MEXICO. SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL. 1985b.
Alimentos-Lácteos-Queso tipo Patagrás. Dirección general de
normas. NMX-F-486-1985. Disponible en:
<http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/NOM/NMX-F-486-1985.pdf>.
Revisado el: 20/04/2007.

MEXICO. SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL. 1985c.
Alimentos-Lácteos-Queso tipo Cheddar. Dirección general de
normas. NMX-F-093-1985. Disponible en:
<http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/NOM/NMX-F-093-1985.pdf>.
Revisado el: 20/04/2007.

MORALES, O. 1993. Efectos de altas temperaturas de maduración, sobre
características fisicoquímicas y fisicoorganolépticas del queso

Chanco. Tesis de Magíster en Ciencia y Tecnología de la Leche. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia. Chile. 148 p.

MORALES, P., FELIU, I., FERNÁNDEZ, E. y NUÑEZ, M. 2004. Volatile compounds produced in cheese by *Enterobacteriaceae* strains of dairy origin. *Journal of Food Protection*, 67(3): 567-573.

MORALES, P., FERNÁNDEZ, E. y NÚÑEZ, M. 2005. Production of volatile compounds in cheese by *Pseudomonas fragi* strains of dairy origin. *Journal of Food Protection* 68(7): 1399-1407.

NANA y FARKIE. 2004. Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2/3): 91-98.

NOVELLA, S., VECIANA, M., ROIG, A., TRUJILLO, A. y VIDAL, M. 2002. Influence of Starter and Nonstarter on the Formation of Biogenic Amine in Goat Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Science*, 85: 2471–2478.

(ODEPA) OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS. 2006. Boletín de la Leche. Ministerio de Agricultura. 56 p. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servicios-informacion/Lacteos/Leche-2006.pdf> . Revisado el 02/04/2007.

PASCUAL, E. 1983. Los problemas más frecuentes en la fabricación de queso. *Industrias Lácteas Españolas*, 83 (40): 27 – 36.

- PINTO, M., S. VEGA y N. PEREZ. 1998. Métodos de análisis de la leche y derivados. Garantía de calidad. Valdivia. Imprenta Universitaria S. A. Valdivia, Chile. 489 p.
- POLYCHRONIADOU, A. 2001. Eyes in cheese: a concise review. *Milchwissenschaft*, 56 (2): 74 - 77.
- RAMSARAN, H., CHEN, J., BRUNKE, B., HILL, A. y GRIFFITHS, M. 1998. Survival of Bioluminescent *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 in Soft Cheeses. *Journal of Dairy Science*, 81: 1810–1817.
- ROBINSON, R. 1981. Dairy microbiology. The microbiology of milk products. Ed. Publishers. 333 p.
- SCHÖBITZ, R., MARÍN, M., HORZELLA, M. y CARRASCO, E. 2001. Presencia de *Listeria monocytogenes* en leche cruda y quesos frescos artesanales. *Revista Agro Sur*, 29(2).
- SCOTT, R. 1991. Fabricación de queso. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 515 p.
- SORIA, R. 1983. Contribución al Estudio de Hinchazón en el Queso Andino en dos Comunidades Rurales de la Región Interandina Central del Ecuador. Tesis Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Centro Tecnológico de la Leche para Chile y América Latina. Magíster en Ciencia y Tecnología de la Leche. 118 p.

WALSTRA. P., GEURTS. T., NOOMAN. A., JELLEMA. A., VAN BOEKEL. M.
1999. Dairy technology. Principles of milk properties and
processes. Ed. Board. New York. 727 p.

WITTIG, E. 1982. Evaluación sensorial. Una metodología actual para
tecnología de alimentos. Universidad de Santiago de Chile.
Santiago. 134 p.

ANEXO 1

1.1 Determinación de tirosina soluble en TCA

Principio: El método se basa en la capacidad del ácido tricloroacético (TCA), para remover pequeños y medianos péptidos y aminoácidos en un extracto soluble de queso. Se utiliza el reactivo de Folin - Ciocalteu para desarrollar el color azul, debido a la reducción del fosfomolibdato-fosfotungstato del reactivo por los aminoácidos aromáticos (tirosina). La intensidad del color es medida espectrofotométricamente a 650nm.

Se determina el grado de proteólisis, expresado en términos de contenido de tirosina.

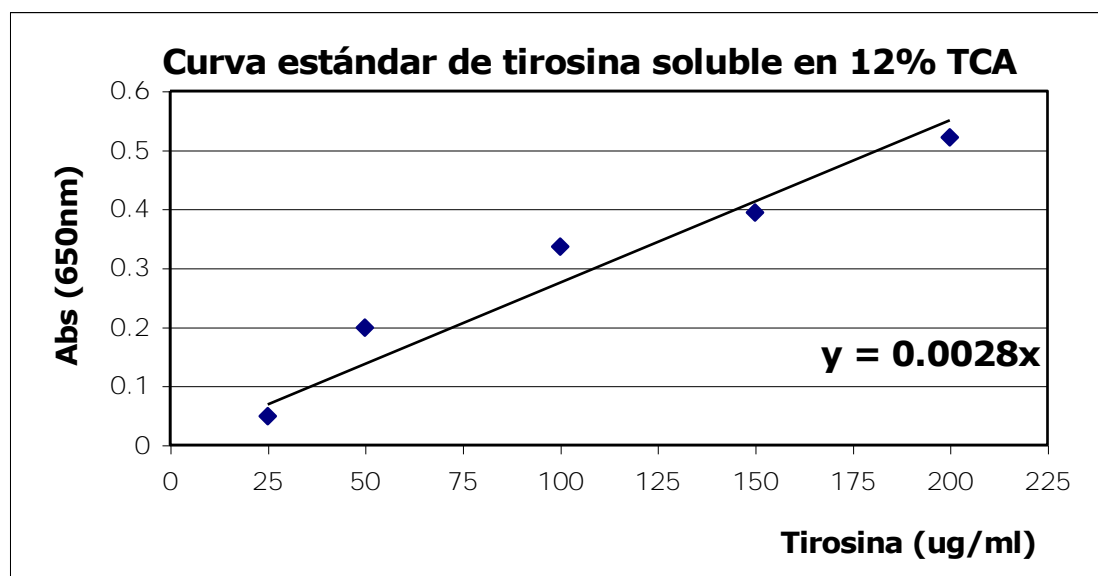
Procedimiento:

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

Expresión de los resultados: los valores de absorbancia obtenidos son convertidos a su equivalente en $\mu\text{g/ml}$ utilizando la curva estándar que se construyó con las lecturas de absorbancia de acuerdo el cuadro que se presenta a continuación. Los resultados se expresan en mg/g , utilizando un factor de dilución de 3,08 (15,4:5) (Samples et al, y citado por BARRIA, 1995).

Obtención de la curva estándar de tirosina soluble en 12% TCA

Tirosina ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbancia (650nm)
25	0,049
50	0,199
100	0,336
150	0,394
200	0,521



1.2 Determinación de fosfatasa residual

Principio: El tratamiento térmico de la leche (pasteurización) inactiva mas o menos completamente su fosfatasa alcalina, dependiendo de la intensidad del tratamiento. El queso elaborado con leche pasteurizada presentará un nivel de fosfatasa residual correspondiente a su materia prima. Como medio se usa fenilfosfato disódico, el cual es hidrolizado en presencia de fosfatasa, liberando fenol. El fenol liberado reacciona con dibromo quinonclorimida produciéndose dibromoindofenol de color azul, el cual es extraído y medido colorimétricamente a 610nm. La actividad de la fosfatasa residual se expresa como microgramos de fenol por 0,25g de queso.

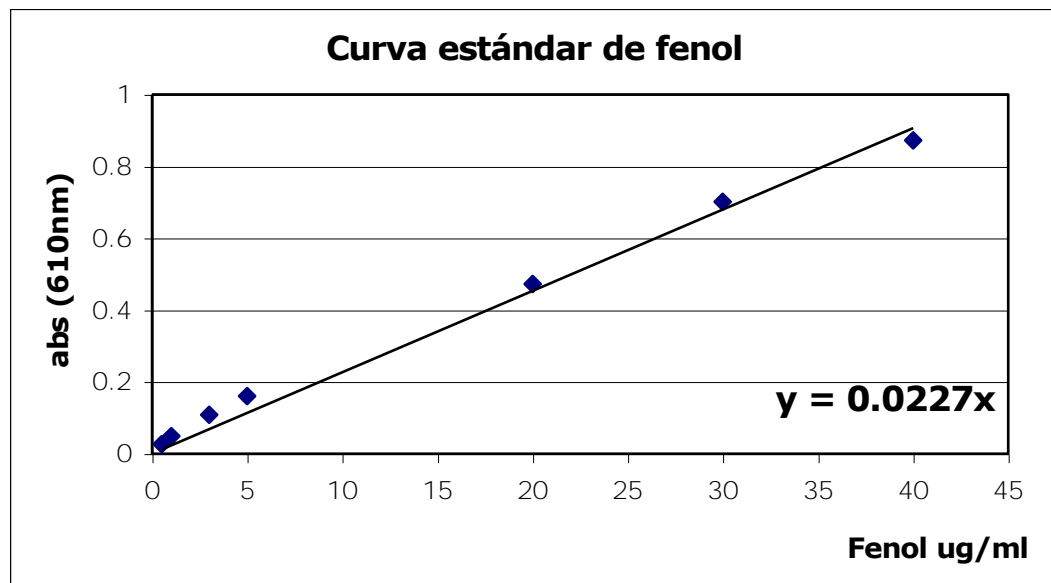
Procedimiento:

- Pesar 0,5 gramos de muestra de queso en duplicado
- Macerar con varilla de vidrio
- Agregar 1 ml de buffer con sustrato
- Macerar y dejar varilla en tubo
- Adicionar 9 ml de buffer sustrato
- Mezclar y ajustar pH a 10,0-10,5
- Dejar varilla en el tubo y cubrir con alusa, mezclar ocasionalmente en baño Maria 85-90°C por 1 minuto
- Enfriar a temperatura ambiente
- Agregar 1 ml de solución I
- Mezclar y verificar pH a 9,0-9,1
- Filtrar con papel filtro Whatman 42 o 5B
- Tomar 5 ml del filtrado y agregar 5 ml de buffer (NaBO_2) además de 4 gotas de BQC (2,6 - dibromoquinonclorimida) (Reactivo de Gibbs)
- Reposo por 30 minutos a temperatura ambiente y leer la solución a 610nm frente al blanco que se prepara de la misma forma solo que se le agrega 1 ml de buffer sin sustrato.

- El valor obtenido de la curva construida se multiplica por el factor 1,1 para obtener el resultado en $\mu\text{g}/0,25\text{g}$ de queso

Obtención de la curva estándar de fenol

FOSFATASA ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Absorbancia (610nm)
0,5	0,027
1	0,049
3	0,109
5	0,161
20	0,473
30	0,701
40	0,872



ANEXO 2

Evaluación sensorial a queso Chanco

Tipo: Valoración y Preferencias

Método: Descriptivo y Escala Hedónica

Nombre: _____

Fecha: _____

A continuación se le hará entrega de muestras de Queso Chanco. Indique el puntaje respectivo asignado por Usted, en el casillero correspondiente para cada uno de los atributos señalados y para Apreciación General.

Atributo	Calificación	Muestras			
<i>Color</i>	1.Muy pálido 3.Típico 5. Muy intenso				
<i>Olor</i>	1.No desarrollado 3.Típico 5.Muy intenso				
<i>Gusto</i>	1.No desarrollado 3.Normal 5.Sabor exagerado				
<i>Cuerpo</i>	1. Muy blando 3. Normal 5. Muy firme				
<i>Apreciación general</i>	1.Me disgusta extremadamente 2.Me disgusta mucho 3.Me disgusta levemente 4.No me gusta ni me disgusta 5.Me gusta levemente 6.Me gusta mucho 7.Me gusta extremadamente				

Comentarios: _____

ANEXO 3

Atributos a evaluar en queso Chanco

Color (Masa interna): Se evalúa el color interno al corte del queso. El queso Chanco debe ser amarillo pálido, homogéneo. Se consideran defectos la presencia de manchas, decoloraciones y vetas.

-Típico

El color es amarillo pálido, homogéneo y opaco.

-Defectos

Moteado: Se observa deficiencia en el color del queso, con sombras y/o manchas.

Veteado: Se observan franjas de colores diferentes, en cualquier dirección. Con vetas.

Pálido: El color tiende a blanco, como tiza.

Intenso: El color del queso fluctúa entre amarillo fuerte y anaranjado.

Olor: El queso Chanco debe ser de aroma puro, medianamente intenso, entre los defectos se encuentra ácido, cremoso, muy penetrante, mohoso, etc.

-Típico

Agradable: Puro, medianamente intenso, a queso madurado.

-Defectos

Penetrante: Sensación de penetración física en la cavidad nasal. Olor irritante.

Ácido: Olor a leche agria

A crema: Olor a crema fresca de leche.

Mohoso: Olor a moho

A forraje: Aroma fermentado a forraje recordativo a corral, estiércol

Gusto: El queso Chanco debe ser de gusto suave a queso medianamente madurado. Ejemplo de defectos: dulzón, ácido, salado, sin sal, rancio, insípido, atípico, extraño, otros.

-Típico

Equilibrado: Semimadurado, limpio, sin exceso ni falencias, suave.

-Defectos

Rancio: Sabor desagradable a grasa oxidada.

Salado: sensación intensa a sal.

Amargo: Sabor a químicos

Ácido: Sabor a yogurt, agrio

Procesado: sabor a plástico a empaquetamiento.

Insípido: no tiene sabor, sin gusto.

Fuente: ARTEAGA (2004).

Cuerpo: Se evalúa tanto en la boca al masticar, como también en los dedos, debe ser firme-mantecoso, adecuado para cortar con cuchillo. Ejemplo de defectos: duro, blando, granuloso, harinoso, pajoso, etc.

Fuente: BARRIA (1995).

Apreciación general: Se evalúan todos los atributos en su conjunto además de la apariencia, donde el queso Chanco debe presentar ojos del tamaño de un grano de arroz, de forma irregular, distribuidos abundante y homogéneamente en la masa. Además se evalúa el aspecto externo (cáscara). Defectos: ojos pequeños puntiformes, redondos de tamaños diferentes, distribuidos heterogéneamente y/o ausencia de ojos, cáscara con manchas, mohos, con fisuras o descolorida.

Fuente: LONCOMILLA (2004).

ANEXO 4

Resultados microbiológicos para queso Chanco**A. Región Metropolitana**

Marca	Enterobacterias				<i>Escherichia coli</i>			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
1	3,20	0,95	3,9	2,61±1,46*	2,98	0,95	3,69	2,54±1,42
2	3,27	0,95	0,95	1,72±1,34	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
3	3,36	5,15	4,36	4,29±0,90	3,14	0,95	3,66	2,58±1,44
4	0,95	3,71	1,60	2,09±1,44	0,95	3,01	0,95	1,64±1,19
5	4,40	3,97	3,96	4,11±0,25	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
6	2,65	1,00	0,95	1,53±0,97	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00

Marca	<i>S. aureus</i>				Mohos				Levaduras			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
1	0,95	0,95	1,15	1,02±0,11	0,95	0,95	1,60	1,17±0,38	2,45	1,78	1,78	2,00±0,39
2	3,78	0,95	0,95	1,89±1,63	1,00	0,95	3,23	1,73±1,30	1,48	1,60	3,80	2,29±1,31
3	0,95	3,58	0,95	1,83±1,52	1,30	2,00	3,18	2,16±0,95	2,72	3,91	4,24	3,62±0,80
4	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	1,00	0,95	0,97±0,03	0,95	0,95	2,40	1,43±0,84
5	3,29	4,07	2,78	3,38±0,65	2,60	2,90	2,00	2,50±0,46	3,46	4,37	3,52	3,78±0,51
6	1,93	0,95	0,95	1,28±0,57	1,30	0,95	0,95	1,07±0,20	1,72	0,95	1,30	1,33±0,39

B. Región Octava

Marca	Enterobacterias				<i>Escherichia coli</i>			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
1	3,10	3,22	4,31	3,54±0,67	0,95	0,95	3,61	1,84±1,54
2	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
3	0,95	1,00	0,95	0,97±0,03	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
4	2,98	1,48	4,51	2,99±1,52	2,88	0,95	3,81	2,55±1,46
5	2,11	1,30	5,81	3,08±2,40	0,95	0,95	5,72	2,54±2,75

Marca	<i>S. aureus</i>				Mohos				Levaduras			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
1	2,67	0,95	0,95	1,52±0,99	2,95	0,95	1,00	1,63±1,14	4,39	2,57	2,08	3,01±1,22
2	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	1,00	0,95	1,00	0,98±0,03	1,60	1,00	1,00	1,20±0,35
3	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	1,00	0,97±0,03	2,73	1,95	2,18	2,29±0,40
4	2,99	0,95	0,95	1,63±1,18	1,48	0,95	0,95	0,81±0,75	2,40	2,40	2,26	2,35±0,08
5	0,95	0,95	5,81	2,57±2,81	0,95	0,95	1,30	1,07±0,20	2,28	1,30	2,20	1,93±0,54

C. Región Décima

Marca	Enterobacterias				<i>Escherichia coli</i>			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
1	1,00	0,95	0,95	0,97±0,03	1,00	0,95	0,95	0,97±0,03
2	2,11	0,95	1,30	1,45±0,60	1,89	0,95	1,30	1,38±0,48
3	2,00	0,95	1,30	1,42±0,53	1,30	0,95	0,95	1,07±0,20
4	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
5	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
6	1,30	0,95	0,95	1,07±0,20	1,00	0,95	0,95	0,97±0,03
7	3,03	3,31	1,48	2,61±0,99	3,03	3,21	0,95	2,40±1,26
8	1,60	2,53	3,12	2,42±0,77	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
9	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00

Marca	<i>S. aureus</i>				Mohos				Levaduras			
	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio	1	2	3	Promedio
1	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	1,00	0,97±0,03	0,95	1,60	2,28	1,61±0,66
2	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00
3	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	1,00	0,97±0,03
4	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	1,30	1,00	0,95	1,08±0,19	1,78	2,83	0,95	1,85±0,94
5	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	1,85	1,00	1,27±0,50
6	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	1,30	1,60	2,30	1,73±0,51	2,20	2,00	3,38	2,53±0,74
7	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	1,00	0,95	0,95	0,97±0,03	0,95	0,95	1,00	0,97±0,03
8	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	1,85	1,90	1,60	1,78±0,16
9	0,95	0,95	0,95	0,95±0,00	0,95	1,00	0,95	0,97±0,03	2,31	2,11	0,95	1,79±0,74

*Promedio de las tres mediciones realizadas y su desviación estándar.

ANEXO 5

Análisis estadístico de los recuentos microbiológicos

5.1 Enterobacterias

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,19817 P-valor = 0,242

El valor P de Bartlett's es 0,242925, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	6,6155	2	3,30775	3,34	0,0598
Intra grupos	16,84	17	0,990586		
Total (Corr.)	23,4555	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en los recuentos de Enterobacterias entre las diferentes regiones.

5.2 *Escherichia coli*

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,12639 P-valor = 0,396

El valor P de Bartlett's es 0,393963, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,30965	2	0,654826	1,48	0,2548
Intra grupos	7,5042	17	0,441424		
Total (Corr.)	8,81386	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en los recuentos de *E. coli* entre las diferentes regiones.

5.3 *Staphylococcus aureus*

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 4,34121E14 P-valor =

El valor P de Bartlett's es 0, éste valor es menor que 0,05, lo que indica que hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza. Esto invalida el análisis de varianza.

5.4 Mohos

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,39968 P-valor = 0,071

El valor P de Bartlett's es 0,071957, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,18354	2	0,591772	3,44	0,0555
Intra grupos	2,92204	17	0,171884		
Total (Corr.)	4,10558	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en los recuentos de Mohos entre las diferentes regiones.

5.5 Levaduras

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,20587 P-valor = 0,231

El valor P de Bartlett's es 0,231045, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	3,10235	2	1,55117	2,73	0,0939
Intra grupos	9,67003	17	0,568825		
Total (Corr.)	12,7724	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en los recuentos de Levaduras entre las diferentes regiones.

ANEXO 6

pH de las muestras de queso

Región	Marca	Mes		
		1	2	3
Metropolitana	1	5,4	5,2	5,3
	2	5,6	5,5	5,5
	3	5,5	5,7	5,4
	4	5,5	5,3	5,4
	5	5,5	5,9	5,7
	6	5,6	5,3	5,3
Octava	1	5,3	5,5	5,4
	2	5,3	5,2	5,2
	3	5,5	5,4	5,5
	4	5,2	5,1	5,3
	5	5,3	5,2	5,1
Décima	1	5,6	5,5	5,5
	2	5,7	5,6	5,6
	3	5,5	5,7	5,7
	4	5,5	5,5	5,5
	5	5,6	5,4	5,4
	6	5,4	5,3	5,6
	7	5,6	5,6	5,6
	8	5,4	5,4	5,5
	9	5,2	5,6	5,5

Fuente: FIGUEROA (2006).

ANEXO 7

Resultados de Fosfatasa alcalina residual

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 4,92809 P-valor = 0,0000037

El valor P de Bartlett's es 0,00000378992, éste valor es menor que 0,05, lo que indica que hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza. Esto invalida el análisis de varianza.

ANEXO 8

Resultado del contenido de tirosina y estimación del tiempo de maduración con ecuación*

Región	Marca	Tirosina			Días de maduración			
		1	2	3	1	2	3	Promedio
Metropolitana	1	0,33	0,237	0,223	30	15	15	20 ± 8,7**
	2	0,277	0,521	0,295	15	45	15	25 ± 17,3
	3	0,974	0,276	0,185	45	15	1	20 ± 22,5
	4	0,297	0,244	0,208	15	15	1	10 ± 8,1
	5	0,557	0,364	0,188	45	30	1	25 ± 22,4
	6	0,384	0,248	0,279	30	15	15	20 ± 8,7
Octava	1	0,3	0,488	0,337	15	45	30	30 ± 15,0
	2	0,223	0,293	0,246	15	15	15	15 ± 0,0
	3	0,281	0,237	0,403	15	15	30	20 ± 8,7
	4	0,199	0,266	0,15	1	15	1	6 ± 8,1
	5	0,261	0,311	0,272	15	15	15	15 ± 0,0
Décima	1	0,31	0,412	0,298	15	45	15	25 ± 17,3
	2	0,322	0,659	0,277	30	45	15	30 ± 15,0
	3	0,296	0,403	0,439	15	30	45	30 ± 15,0
	4	0,337	0,294	0,282	30	15	15	20 ± 8,7
	5	0,466	0,474	0,262	45	45	15	35 ± 17,3
	6	0,56	0,342	0,223	45	30	15	30 ± 15,0
	7	0,264	0,318	0,376	15	30	30	25 ± 8,7
	8	0,26	0,379	0,43	15	30	45	30 ± 15,0
	9	0,371	0,915	0,433	30	45	45	40 ± 8,7

*Ecuación de regresión lineal de estimación del tiempo de maduración del queso Chanco en función al contenido de tirosina soluble y la temperatura de maduración.

$$0,053 + 0,03 \times (1) + 0,092 t \quad r^2=0,88$$

siendo: (1) = temperatura de maduración a 14°C

t = tiempo de maduración, (1: 1 día; 2: 15 días; 3: 30 días; 4: 45 días)

Fuente: MORALES (1993).

**Promedio de las tres mediciones realizadas y su desviación estándar.

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,08019 P-valor = 0,54€

El valor P de Bartlett's es 0,546769, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	589,928	2	294,964	6,88	0,0065
Intra grupos	729,022	17	42,8837		
Total (Corr.)	1318,95	19			

El valor P es menor a 0,05, es decir, que existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en el tiempo de maduración entre las diferentes regiones.

→ Test de rango múltiple

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

Región	Frec.	Media	Grupos homogéneos
Octava	5	17,2	X
Metropolitana	6	20,0	X
Decima	9	29,4444	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
Decima - Metropolitana	*9,44444	8,85857
Decima - Octava	*12,2444	9,37503
Metropolitana - Octava	2,8	10,1777

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 9
Resultados de Evaluación Sensorial

REGION	Marca	Color	Olor	Gusto	Cuerpo	Apreciación General
Metropolitana	1	2,8 ± 1,1*	2,5 ± 0,1	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,6	4,5 ± 0,3
	2	3,7 ± 0,4	3,3 ± 0,3	3,5 ± 0,5	2,3 ± 0,2	5,6 ± 0,3
	3	2,1 ± 0,7	2,7 ± 0,4	2,7 ± 0,4	3,3 ± 0,6	4,9 ± 0,6
	4	1,4 ± 0,0	2,4 ± 0,5	2,6 ± 0,4	3,0 ± 0,1	4,6 ± 0,7
	5	3,1 ± 0,2	3,0 ± 0,7	2,9 ± 1,0	3,6 ± 1,0	4,5 ± 0,5
	6	1,8 ± 0,5	2,4 ± 0,2	3,2 ± 0,2	2,7 ± 0,1	4,7 ± 0,2
	Promedio	2,5 ± 0,9	2,7 ± 0,4	3,0 ± 0,3	2,9 ± 0,5	4,8 ± 0,4
Octava	1	2,2 ± 0,7	3,0 ± 0,4	3,2 ± 0,3	4,3 ± 0,1	4,4 ± 0,9
	2	2,3 ± 0,3	2,8 ± 0,0	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,0	5,1 ± 0,3
	3	2,8 ± 0,5	2,7 ± 0,3	2,6 ± 0,2	3,5 ± 0,3	5,0 ± 0,4
	4	3,8 ± 0,4	3,2 ± 0,4	3,7 ± 0,5	2,5 ± 0,3	4,9 ± 0,5
	5	3,2 ± 0,8	3,6 ± 0,9	3,9 ± 0,7	2,1 ± 1,1	4,3 ± 1,8
	Promedio	2,9 ± 0,6	3,1 ± 0,4	3,3 ± 0,5	3,1 ± 0,9	4,7 ± 0,4
Décima	1	3,0 ± 0,3	3,0 ± 0,1	2,8 ± 0,4	2,5 ± 0,2	5,5 ± 0,2
	2	3,0 ± 0,4	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,3	3,0 ± 0,2	5,8 ± 0,1
	3	2,9 ± 0,2	3,1 ± 0,3	3,5 ± 0,4	3,8 ± 0,6	4,7 ± 0,4
	4	3,2 ± 0,1	2,8 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,4	5,4 ± 0,4
	5	2,0 ± 0,3	2,8 ± 0,1	3,3 ± 0,4	2,9 ± 0,1	4,9 ± 0,3
	6	3,5 ± 0,3	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,3	3,6 ± 1,1	4,8 ± 0,9
	7	3,8 ± 0,3	2,9 ± 0,3	2,8 ± 0,6	3,9 ± 0,6	4,7 ± 0,7
	8	3,1 ± 0,3	3,0 ± 0,2	2,5 ± 0,3	4,0 ± 0,1	4,5 ± 0,5
	9	3,2 ± 0,4	2,9 ± 0,5	2,9 ± 0,3	3,6 ± 0,4	4,9 ± 0,4
	Promedio	3,1 ± 0,5	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,3	3,3 ± 0,5	5,0 ± 0,5

*Promedio de las tres mediciones realizadas por atributo y su desviación estándar.

→ Análisis de concordancia de Kendall para los jueces

Atributo	W Kendall
Color	0,719
Olor	0,296
Gusto	0,516
Cuerpo	0,639
Aceptación general	0,539

9.1 Color

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,12736 P-valor = 0,391312

El valor P de Bartlett's es 0,391312, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1,27361	2	0,636806	1,46	0,2608
Intra grupos	7,43589	17	0,437405		
Total (Corr.)	8,7095	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en atributo color entre las diferentes regiones.

9.2 Gusto

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,12901 P-valor = 0,386853

El valor P de Bartlett's es 0,386853, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,342944	2	0,171472	1,17	0,3329
Intra grupos	2,48256	17	0,146033		
Total (Corr.)	2,8255	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en atributo gusto entre las diferentes regiones.

9.3 Cuerpo

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,12846 P-valor = 0,38833

El valor P de Bartlett's es 0,38833, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,684444	2	0,342222	0,91	0,4197
Intra grupos	6,36356	17	0,374327		
Total (Corr.)	7,048	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en atributo cuerpo entre las diferentes regiones.

9.4 Apreciación general

→ Chequeo de varianza

Contraste de Bartlett: 1,01019 P-valor = 0,92372

El valor P de Bartlett's es 0,92372, éste valor es mayor que 0,05, lo que indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la desviación estándar al 95% de nivel de confianza.

→ Análisis de varianza (ANDEVA)

Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,317944	2	0,158972	0,92	0,4187
Intra grupos	2,94756	17	0,173386		
Total (Corr.)	3,2655	19			

El valor P es mayor a 0,05, es decir, que no existe diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95% en atributo cuerpo entre las diferentes regiones.