

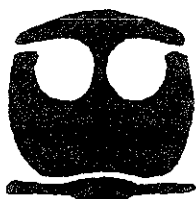


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

UTILIZACION DE UNA CEPA PRODUCTORA DE EXOPOLISACARIDO COMO CULTIVO EN LA ELABORACION DE QUESOS TIPO PANELA Y MANCHEGO

T E S I S  
M A N C O M U N A D A  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUIMICA DE ALIMENTOS  
P R E S E N T A N :  
VIVIANA DE QUEVEDO FERNANDEZ  
MARIA DEL PILAR LLANOS VAZQUEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO, D.F.

MAYO 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

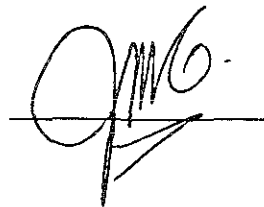
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Jurado asignado

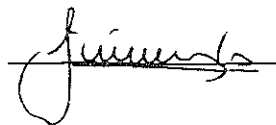
Presidente Prof. María del Carmen Wachter Rodarte  
Vocal: Prof. José Mariano García-Garibay  
Secretario: Prof. Amelia Ma. De Gpe Farres Gonzalez Sarav  
1er suplente Prof. Marta Giles Gómez  
2do suplente Prof. Laura Patricia Pérez Cacep

Sitio dónde se desarrolló el tema: Planta piloto 2. Universidad Autónoma Metropolitana- Plantel Iztapalapa.

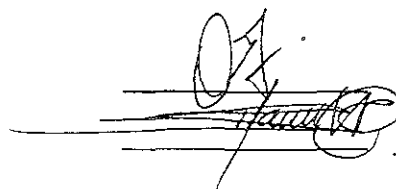
ASESOR: Dr. José Mariano García-Garibay



SUPERVISOR TÉCNICO: M en C. Judith Jiménez Guzmán



SUSTENTANTES: Viviana De Quevedo Fernández  
María del Pilar Llanos Vázquez



## *Agradecimientos*

---

A México, porque no existe mejor tierra en el mundo...

Dr. Mariano García-Garibay, por darnos la oportunidad de concretar este proyecto, por compartir este logro y por todas sus enseñanzas.

Dra. Amelia Farrés y Dra. Carmen Wachter-R, por tener siempre la mejor disposición y el más sincero apoyo. Su sonrisa es una combinación de sabiduría y sencillez. Para ustedes con cariño.

Dr. Eduardo Bárzana G, por sus enseñanzas que más allá de lo académico nos han permitido ser mejores seres humanos. Por sus consejos y su bella amistad.

A Angélica Flores, por tu ayuda invaluable para lograr esta meta, parte de este logro es tuyo.

## *Agradecimientos*

A mi madre, que ha sido el ejemplo a seguir y el soporte de mi vida. Gracias por tu amor, tu dedicación y por enseñarme a ser una mujer con fortaleza y decisión; por cumplir esa tarea tan difícil ser madre y padre a la vez. Esta meta es la primera de muchas que tenemos por alcanzar. Te quiero mucho mamá.

A Maribel, que ha sido siempre un apoyo, una luz, una alegría en mi vida. Por estar conmigo en todo momento y llevar a cabo metas que sin ti no hubieran sido posibles. Gracias por tu amistad, tus consejos y sobre todo por tu presencia a cada paso de mi vida y en los que pronto o he de dar. Eres una mujer excepcional.

A mi abuela Ma. Elena, que a través del tiempo me has dado tu amor, múltiples enseñanzas y sobre todo has sido una fuerza desde que recuerdo. Por enseñarme a amar la vida.

A mi hermano, por estar a través del tiempo conmigo. A mi familia por la unión que siempre me han demostrado y el apoyo que me han brindado.

A Viviana, por ser mi compañera y amiga. Hemos compartido momentos únicos durante un buen periodo de nuestras vidas, hemos compartido vivido un sin fin de sentimientos que me han hecho ser mejor y tú has sido parte fundamental de ello. Muchas gracias por brindarme tu amistad y esa forma de ser tan característica que intensifica tu luz.

## Agradecimientos

A Clon y Adriana, porque al volver atrás es difícil no recordar un sin fin de momentos felices, llenos de alegría, que desde que comenzó nuestra amistad hemos compartido y hemos crecido como personas en diferentes ámbitos de nuestras vidas. Les agradezco mucho cada momento que hemos pasado y la parte de ustedes de la que formo parte. Ayer fueron, hoy son y mañana serán mis grandes amigas. Las quiero mucho

A mis compañeros y amigos que me brindaron su inigualable amistad: Marta gracias por tu apoyo desde los inicios de esta etapa que está por concluir, por compartir tu sabiduría y tu muy especial modo de ver la vida; a Nany por esa belleza interior que te caracteriza y ser capaz de contagiarme un poco de ella; a Rosy por dejarme ser parte de tus metas y por tu apoyo en los momentos difíciles; a Ethel por tu sincera amistad; a Carlos A., por demostrarme la diferencia que existe entre apariencia e interior de las personas.

A José Luis que ha seguido una etapa tan importante en mi vida. Eres una persona a la que tengo muchas cosas que agradecer pero más aún que me hacen quererte y tenerte en un lugar muy especial de mi corazón

A la familia De Quevedo, por todos los momentos que he pasado con ustedes, a Vanessa por tu amistad, a Erick, Teresa y Rafael, por sus sabios consejos y palabras de aliento. A todos ustedes por darme la oportunidad de ser un miembro más de la familia.

A Emmanuel R. por enseñarme a creer en la palabra "siempre" y en el amor verdadero, por compartir momentos inolvidables. Eres un motor para seguir luchando. A tu lado es difícil contabilizar el tiempo. Principio y fin....

## Agradecimientos

A Dios.- Por darme la vida y por vivir conmigo.

Pily . - Simplemente este proyecto se logró en conjunto; Momentos llenos de contraste pero con una constante: Amistad infinita, siempre estaremos unidas...

A toda mi familia, a mi Abuelita Alicia.- Por esa sonrisa inolvidable que da aliento...., Pancho, Ruth y Amelia.- Miguel, Diana y Patrick De Q.- Hombro con hombro como lo han demostrado...

Papá. – Tu nobleza, tu carácter y tu amor son tu mejor legado, Tu corazón no tiene límites ni mi admiración por ti, te quiero pá.

Mamá.- Eres el cimiento de mi crecimiento, alguien que en todo momento escucha y da, mi mejor enseñanza en todos los sentidos, por nunca cansarte de luchar por ser mejor y por ser la mejor ante mis ojos: te quiero má.

Erick.- Por darme una lección de apoyo y amor incondicional, Hermano, no cabe mi agradecimiento...

Vanessa: *Aprendí mucho de tu valentía, por contar contigo. Por darme al ser más increíble y al que quiero como a nadie: **Andrea.***

Beto: Por ser el mejor cuñado y una persona excelente, por tu responsabilidad y amor hacia mi familia,

## Agradecimientos

Dulce M., Un ser humano único, Guillermo C., Juan Manuel C.- Por ser una extensión de mi familia.

Rodrigo G.- Eres Motivación, Ayuda y Amor. Gracias... totales.

Karla C.(piojo) -Por estar conmigo en momentos decisivos; Por nunca dejarme caer y por compartir tantos momentos.

Abraham A., Rodrigo B., (lápiz), Alejandro B., Rómulo B., Juan Carlos C, Alejandro De E (Magú), Luis H, Israel G., Eduardo G., Lupita M., David R., Emmanuel R., Mariano R-B (Marra), Gerardo S., (Chacho), Grethel V., Por hacer de la facultad algo inolvidable; Siempre serán especiales para mí.

Martha L., Por ser ejemplo de amistad, por tu entrega, Nany, Tu ternura es inmensa, Rosy Gómez-H., Por ser tan auténtica y por nunca fallar.

Pablo G.- La persona más sincera y buena que conozco.

Santiago A., Jiro S.- Por hacerme parte de su vida, me enorgullezco de contar con ustedes.

Emmanuel R. Por tu inmensa nobleza y por querer tanto a Pily...

Carlos A .- Por tu entrega y tu incondicionalidad en todo momento.



## Agradecimientos

Miguel Angel R (Mike), Mauricio R.- Por demostrarme que la generosidad de un amigo no tiene límites, espero poder corresponder...

Alejandra C, Mara G, Aurora O., Erika P.- Porque el tiempo nos ha unido cada vez más, son lo máximo.

David Ríos.- Por enseñarme que una diferencia de pensamientos no separa, une.

Toño P.- Admiro tu fortaleza, por estar conmigo, Carlos J., Rafael L., amigos del pasado que siempre están presentes.

Walter M.- Por preocuparte por mí, Ricardo S., David M., Marcaron una pauta que no se olvida

Eduardo B., Miguel C., Mercedes Li., P. Jose Luis L. Constanza M., Margarita P - Su enseñanza y valor no caben en estas letras.

**CAPÍTULO 1**

<b>1.1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.2. OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
1.2.1. General	3
1.2.2. Particular	3

**CAPÍTULO 2**

**GENERALIDADES**

<b>2.1. LA LECHE: COMPOSICIÓN</b>	<b>4</b>
2.1.1 Proteínas	5
2.1.1.1 Las caseínas	6
2.1.1.2 Micelas de caseína: Organización y Estabilidad	9
2.1.1.3 Proteínas del Lactosuero	11
2.1.2 Grasa	12
2.1.3 Lactosa	14
2.1.4 Vitaminas y Minerales	15
2.1.5 Enzimas	15

<b>2.2. EL QUESO</b>	<b>17</b>
2.2.1 Definición	17
2.2.2 Historia del queso	17
2.2.3 Clasificación de los quesos	19
2.2.4 Queso tipo Panela	21
2.2.4.1 Antecedentes	21
2.2.4.2 Definición y características generales	21
2.2.4.3 Composición del queso tipo Panela	22
2.2.5 Queso tipo Manchego	22
2.2.5.1 Antecedentes	22
2.2.5.2 Características generales	23
2.2.5.3 Composición	23
<b>2.3. ETAPAS EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO</b>	
2.3.1 Preparación de la leche	24
2.3.1.1 Estandarización	24
2.3.1.2 Pasteurización	25
2.3.1.3 Homogeneización	25
2.3.1.4 Maduración de la leche	25
2.3.2 Coagulación	26
2.3.2.1 Coagulación por acidificación	26
2.3.2.2 Coagulación por acción de enzimas	27
2.3.2.3 Factores de coagulación por el cuajo	28
2.3.3 Desuerado	29
2.3.3.1 Mecanismos del desuerado	29
2.3.4 Salado	30
2.3.5 Maduración	30
2.3.5.1 pH	31
2.3.5.2 Actividad del agua (Aw)	31

2.3.5.3	Temperatura	31
2.3.5.4	Lactosa	32
2.3.5.5	Materia grasa	32
2.3.5.6	Proteínas	33
<b>2.4.</b>	<b>CONCENTRACIÓN DE SÓLIDOS</b>	<b>33</b>
<b>2.5.</b>	<b>BACTERIAS LÁCTICAS</b>	
2.5.1.	Características generales y clasificación	35
2.5.2.	Condiciones óptimas de nutrición y metabolismo de las bacterias ácido-lácticas	37
2.5.3	Cultivos iniciadores	39
<b>2.6.</b>	<b>BACTERIAS LÁCTICAS FILANTES</b>	<b>41</b>
2.6.1.	Características generales	41
<b>2.7.</b>	<b>EXOPOLISACÁRIDOS</b>	<b>42</b>
2.7.1.	Composición química y estructura	42
2.7.2.	Condiciones óptimas de producción	44
2.7.3.	Aplicaciones del exopolisacárido	46

## **CAPÍTULO 3**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>3.1.</b>	<b>LECHE</b>	<b>48</b>
<b>3.2.</b>	<b>MICROORGANISMOS</b>	<b>48</b>
<b>3.3.</b>	<b>CULTIVOS INICIALES</b>	<b>49</b>

<b>3.4. ELABORACIÓN DE QUESO TIPO PANELA Y MANCHEGO</b>	<b>49</b>
3.4.1. Caracterización de la leche	49
3.4.2. Fermentación	50
3.4.2.1. Medición de pH y acidez	50
3.4.2.2. Medición indirecta de la producción de exopolisacárido	51
3.4.3. Coagulación de la leche	51
3.4.4. Tratamiento del cuajo	52
3.4.4.1. Cortado y desuérado	52
3.4.4.2. Escaldado	52
3.4.5. Prensado	53
3.4.6. Maduración	53
<b>3.5. MICROSCOPIAS ELECTRÓNICAS</b>	<b>54</b>
3.5.1. Preparación de la muestra	54
3.5.2. Observación en el Microscopio de Barrido Diferencial	56

## **CAPÍTULO 4**

### **RESULTADOS Y DISCUSIONES**

<b>4.1. FERMENTACIÓN DE LA LECHE</b>	<b>57</b>
<b>4.2. VISCOSIDAD APARENTE</b>	<b>63</b>
4.2.1. Relación entre la producción de exopolisacárido y el pH del medio	67
<b>4.3. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS EN LOS QUESOS</b>	<b>69</b>
4.3.1. Queso tipo Panela	69
4.3.2. Queso tipo Manchego con 17% de sólidos totales	76

# Capítulo 1

## Introducción y Objetivos

---

### 1.1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido-lácticas son industrialmente importantes en la producción de yogurt y quesos y cuyas características metabólicas relevantes para estos fines son la producción de ácido láctico y otros subproductos de importancia organoléptica y, en casos específicos, la síntesis de polisacárido.

La síntesis de polisacárido extracelular con propiedades adhesivas sintetizado por bacterias (llamadas por esta razón **bacterias filantes**) se conoce desde 1880; ahora se sabe que una gran cantidad de bacterias y algunos hongos producen este tipo de polímeros y cuya estructura química puede ser muy diversa (Whitfield, 1988).

Debido a muchas variables que los caracterizan (tales como el número y combinación de monosacáridos, sustituyentes y tipos de uniones entre ellos) hacen a estos polisacáridos extracelulares sumamente aplicables en muchísimos campos (Whitfield, 1988).

En el campo particular de los alimentos se han utilizado como aditivos alimentarios (goma xantana y gelano), y como estabilizantes debido a que aumentan la viscosidad del medio y actúan como agentes ligantes de agua, (Cerning, 1995, De Vuyst y Degeest, 1999).

En la industria láctea en particular ha surgido un gran interés en el uso de cepas filantes ya que en los últimos años se han usado en la elaboración de yogurt, mejorando considerablemente sus propiedades reológicas y disminuyendo notablemente la sinéresis o separación del suero, lo cual representa una ventaja económica ya que permite, en algunos casos, el ahorro de leche y estabilizantes, además de una ventaja legal ya que se puede omitir el uso de estos aditivos artificiales en el yogurt. (Villegas, 1995). Esto se aplica principalmente en países en donde el uso de estabilizantes no está permitido, uno de los cuales es México.

No obstante la ventaja que representa el uso de estas cepas en la producción de yogurt, existen pocos estudios con relación a su uso y aplicación en la producción de quesos. Perry y col. (1995) demostraron que el uso de estas cepas en queso Mozzarella bajo en grasa aumentan su rendimiento y mejoran sus propiedades organolépticas. Esto es explicado por Low y col. (1988), en donde se hace manifiesto que el exopolisacárido producido por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tiene la capacidad de unir grandes cantidades de agua e incluso de ser un sustituto de la grasa, ya que actúa de manera similar creando los espacios que los glóbulos de grasa ocupan en los cuales el agua es retenida, además de contribuir en el aspecto sensorial de los mismos.

Por lo anterior, se pretende utilizar la bacteria *Streptococcus thermophilus* SY-102 cepa filante en la producción de queso tipo panela y manchego para estudiar los beneficios que se pueden obtener en el rendimiento y composición de los mismos.

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1 GENERAL**

- ◆ Evaluar los cambios y beneficios obtenidos por el uso de una bacteria productora de exopolisacárido (*Streptococcus thermophilus* SY-102) en el rendimiento y propiedades fisicoquímicas de quesos tipo Panela y Manchego, sola o en combinación con el incremento de sólidos de leche.

### **1.2.2 PARTICULARES**

- ◆ Determinar indirectamente la presencia del exopolisacárido mediante la medición del cambio en la viscosidad aparente registrada durante la fermentación de la leche.
- ◆ Evaluar los beneficios obtenidos con el uso de *Streptococcus thermophilus* SY-102 productor de exopolisacárido en queso tipo panela y manchego de acuerdo a los cambios en la humedad, rendimiento y composición del queso.
- ◆ Evaluar mediante un análisis microscópico para observar las diferencias producidas por el polímero en la estructura de los quesos.
- ◆ Determinar el efecto en los mismos parámetros al aumentar la cantidad de sólidos totales en la leche.



## *Capítulo 2*

### *Generalidades*

---

#### **2.1 LA LECHE: COMPOSICIÓN**

**L**a leche es el alimento natural del mamífero recién nacido, a quién proporciona la única fuente de nutrientes durante el periodo inmediatamente posterior al nacimiento( Porter,1975).

La leche posee un alto valor nutrimental. Se considera un alimento complejo, con más de 100,000 componentes de distintas especies moleculares. Existen muchos factores que pueden afectar la composición de la leche: la alimentación dada a la vaca, la raza de la misma, variaciones estacionales y geográficas. Debido a esto, solo se puede dar una composición aproximada de la leche (Tabla 1):

**TABLA 1**  
**COMPOSICIÓN GENERAL DE LA LECHE**

COMPONENTE	CANTIDAD EN 100G DE LECHE
• Agua	88 g
• Grasa	3.8 g
• Sólidos no grasos:	8.8 g
- Proteínas (3/4 caseína)	3.3 g
- Lactosa	4.8 g
- Minerales (Ca, P, Mg, Na, Zn, Cl, Fe, Cu, sulfato, bicarbonato, citrato y otros)	121 mg

La leche también contiene una gran variedad de enzimas como: peroxidasa, catalasa, fosfatasa, lipasa y vitaminas (A, C, D, tiamina, riboflavina y otras) (Fox y Cameron, 1982).

### 2.1.1 PROTEÍNAS

La leche contiene como término medio un 3.2% de proteínas de las que el 75% son caseínas. Normalmente se distinguen entre las caseínas, que precipitan a pH 4.6, y las otras proteínas que se denominan proteínas del lactosuero y que no precipitan con las caseínas a menos que previamente hayan sido desnaturalizadas por el calor u otros tratamientos. Las proteínas del lactosuero incluyen a la  $\alpha$ -lactoalbúminas, las  $\beta$ -lactoglobulina y la albúmina sérica entre otras; es importante señalar que estas proteínas son más ricas que la caseína en tres de los aminoácidos más importantes en la alimentación humana: lisina, metionina y triptófano. También son más ricas en aminoácidos sulfurados, lo que influye en la disminución de la estabilidad frente al calor de la  $\beta$ -lactoglobulina (Riel, 1991).

El contenido de nitrógeno en la leche está distribuido entre las caseínas (75%), las proteínas del suero (18%) y el nitrógeno no proteico (6%). La concentración proteica de la leche se muestra en la tabla 2 es la siguiente:

**TABLA 2**  
**CONCENTRACIÓN DE LAS PROTEÍNAS CONSTITUTIVAS DE LA LECHE**

TIPO DE PROTEÍNA	CONCENTRACIÓN gramos/litro	PORCENTAJE
<i>Proteína Total</i>	33	100
<i>Caseínas Totales</i>	26	75
- $\alpha$ -s1	10	30.6
- $\alpha$ -s2	2.6	8.0
- $\beta$	9.3	28.4
- $\kappa$	3.3	10.1
<i>Proteínas del Suero</i>	6.3	19.3
- $\alpha$ -lactoalbúmina	1.2	3.7
- $\beta$ -lactoglobulina	3.2	9.8
<i>ASB</i>	0.4	1.2
- Inmunoglobulina	0.7	2.1
- Proteasa-peptona	0.8	2.4

(<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/chem.html>)

### 2.1.1.1 Las caseínas

Las caseínas de la leche están en forma de fosfo-caseinato cálcico. Se distinguen cuatro tipos de caseínas primarias: la caseína  $\alpha$ s1 (peso molecular de 23,600), la caseína  $\alpha$ s2 (peso molecular de 25,150), la caseína  $\beta$  (peso molecular de 24,000), la caseína  $\kappa$  (peso molecular de 19,000), y otras caseínas derivadas como las caseínas  $\gamma$ ,  $\alpha$ s0, las caseínas  $\lambda$ , etc. Las caseínas  $\alpha$  y  $\beta$  son sensibles al  $\text{Ca}^{2+}$ , mientras que las caseínas  $\kappa$  tiene un papel estabilizante de las micelas de caseína frente al  $\text{Ca}^{2+}$ .

Las **caseínas  $\alpha$**  son más ricas en P y esto las hace más sensibles al calcio. También son ricas en grupos ácidos libres. Contienen varios agrupamientos fosfoserilo y por tanto son las más hidrofílicas. Su punto isoeléctrico es el más bajo (pH 4.1).

Las **caseínas  $\beta$**  son solubles a baja temperatura (2°C). Contienen menos P pero son más ricas en S que las caseínas  $\alpha$ . Contiene solamente un agrupamiento fosfoserilo en la secuencia N-terminal y la gran secuencia C-terminal restante es muy hidrofóbica. Por tanto, la  $\beta$ -caseína es la más hidrofóbica de todas las proteínas de la leche y la más dependiente de la temperatura. Tienen su punto isoeléctrico a pH 4.9.

La **caseína  $\kappa$**  son proteínas solubles aún en presencia de una alta concentración de iones  $\text{Ca}^{2+}$ . Es pobre en P y rica en segmentos glicósidos. En el sustrato específico de la acción proteolítica del cuajo y está constituida por el segmento terminal aminado que es la para- $\kappa$ -caseína, caracterizada por residuos hidrofóbicos. El otro segmento terminal es el carboxilo, conocido como el glicomacropéptido hidrofílico, de carácter ácido y, en consecuencia, electronegativo.

La naturaleza amfifílica de la estructura de la  $\kappa$ -caseína es un factor clave de la capacidad única de esta proteína para estabilizar la micela de caseína de la leche. La  $\kappa$ -caseína contiene sólo un residuo fosfoserilo en su dominio polar a diferencia de las caseínas sensibles al calcio y por consiguiente, no liga tanto  $\text{Ca}^{2+}$ . En consecuencia la  $\kappa$ -caseína no es precipitada por el  $\text{Ca}^{2+}$  a la concentración a la que se encuentra en la leche.

Las caseínas poseen un cierto número de caracteres comunes:

- La presencia de P bajo la forma de grupos fosfoserina
- Su riqueza en ciertos aminoácidos (ácido glutámico, leucina, prolina)
- La fuerte proporción de radicales apolares lo cual las hace de naturaleza hidrofóbica en algunos dominios.

Se diferencian las unas de las otras por:

- El número de radicales fosfoserina
- La presencia o ausencia de: cisteína y de glucósidos.
- Su carácter más o menos hidrofóbico.
- Su contenido en ciertos aminoácidos (prolina, tirosina). La presencia de grupos fosfoserilos confiere a las caseínas una gran afinidad frente al  $\text{Ca}^{2+}$ , el  $\text{Mg}^{2+}$  y los oligoelementos (Bruler y Lenoir, 1990).

La composición y estructura primaria de las caseínas les confiere determinadas propiedades fisicoquímicas importantes:

- Carácter aniónico marcado en medio neutro, debido a la presencia de radicales fosfoserina y/o a un número importante de radicales del ácido glutámico.
- Insolubilidad en agua en el punto isoeléctrico (pH 4.6 para la caseína entera) debido a la elevada proporción de radicales apolares.
- Comportamiento en medio cálcico, relacionado con la existencia de radicales fosfoserina, que determinan la complejación del calcio por las caseínas  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  y  $\beta$ ; lo que tiene por consecuencia disminuir su carga eléctrica y su hidrofiliidad, determinando su insolubilidad (Bruler y Lenoir 1990).

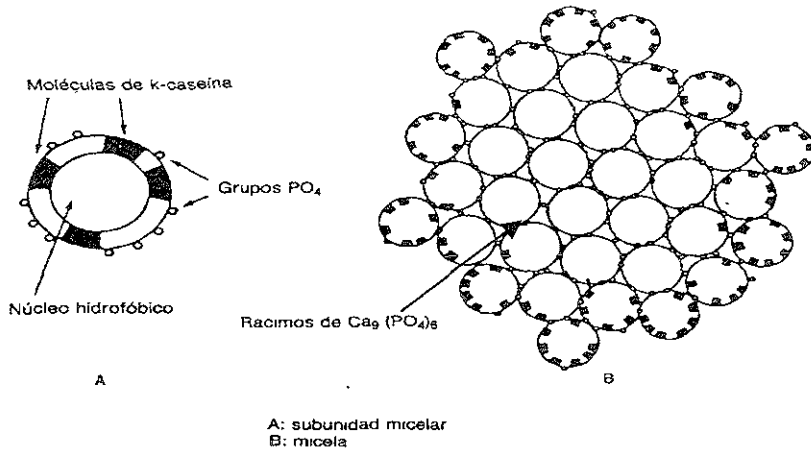
### **2.1.1.2 Micelas de caseína: organización y estabilidad**

Las micelas de caseína son partículas esféricas formadas por la asociación de caseínas ( $\alpha_{s1}$  - $\alpha_{s2}$  -  $\beta$  - $\kappa$ ) y de algunos fragmentos peptídicos (las caseínas  $\gamma$ ) que aparecen como consecuencia de la proteólisis de la caseína  $\beta$  y de componentes salinos entre los que hay que destacar el  $\text{Ca}^{2+}$  y el  $\text{PO}_4^{2-}$ .

No todas las micelas poseen las mismas dimensiones ni la misma composición. Las grandes micelas poseen una carga mineral más elevada y proporciones relativas de caseína  $\beta$  y  $\kappa$  más bajas que las

La estructura micelar aún no está definida por completo. Se ha propuesto un modelo en donde se dice que la micela está formada por subunidades de naturaleza exclusivamente proteica y de composición variable, que se asocian unas con otras a través de elementos minerales ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{PO}_4^{2-}$  y citratos ) (Bruler y Lenoir, 1990).

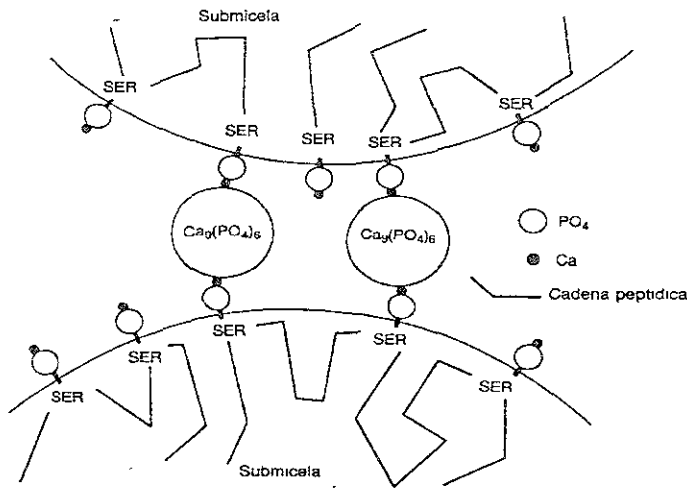
Las subunidades poseen una forma esférica y un diámetro medio de 15 a 20 nm, un peso molecular cercano a 250,000 Da. La estructura de estas submicelas no es uniforme como se muestra en la figura 1 A.



**FIGURA 1A Y 1B. ESTRUCTURA DE LA MICELA DE CASEÍNA (BRULER Y LENOIR, 1990)**

Éstas poseerían un interior de naturaleza hidrofóbica formado por las partes apolares de las caseínas, y una cubierta de naturaleza polar (Bruler y Lenoir, 1990).

Estas subunidades se juntan entre ellas a través de  $\text{Ca}^{2+}$  y de fosfato mineral (figura 2), dando lugar a la formación de la micela. Esta asociación se ve favorecida por los radicales fosfoserina localizados en el exterior de las submicelas, en las cuales las proporciones de caseínas varían, especialmente de las  $\alpha$ . El área superficial de la parte polar de las  $\alpha$ -caseínas y en consecuencia, privada de radicales de fijación de elementos minerales puede ser más o menos grande (Figura 1B).



**FIGURA 2. ESQUEMA DE UNIÓN DE DOS SUBMICELAS A TRAVÉS DEL FOSFATO CÁLCICO. (BRULER Y LENOIR, 1990)**

Las micelas de caseína presentan una gran estabilidad, siendo gránulos coloidales hidrofílicos. Su estabilidad la deben principalmente a:

- Su carga neta: Carácter ácido de las caseínas.
- El grado de hidratación: las micelas de caseína fijan en efecto gran cantidad de agua; una parte de dicha agua es inmovilizada en la superficie formando una capa de hidratación que protege y da estabilidad a la micela.

### 2.1.1.3 Proteínas del lactosuero

Las albúminas y las globulinas de la leche son muy diferentes a las caseínas. Son emulsoides verdaderos en el sentido de que presentan una fuerte afinidad por el agua. Las albúminas y las globulinas no coagulan con la caseína por simple acidificación a pH 4.6 como se comentó con anterioridad.



Son proteínas termosensibles y se desnaturalizan por el calor a temperaturas superiores a los tratamientos de pasteurización. Cuantitativamente, representan el 20% de las proteínas totales. En la leche normal, el 80% de ellas son albúminas ( $\beta$ -latoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina y albúmina sérica), pero en el calostro, las globulinas verdaderas (inmunoglobulinas) son las mayoritarias (Riel, 1991).

### **2.1.2 GRASA**

La cantidad de grasa contenida en la leche es de suma importancia ya que la leche es vendida con base en este componente; la leche no sólo es una solución y una dispersión coloidal (un sol), sino también una emulsión (Charley, 1997).

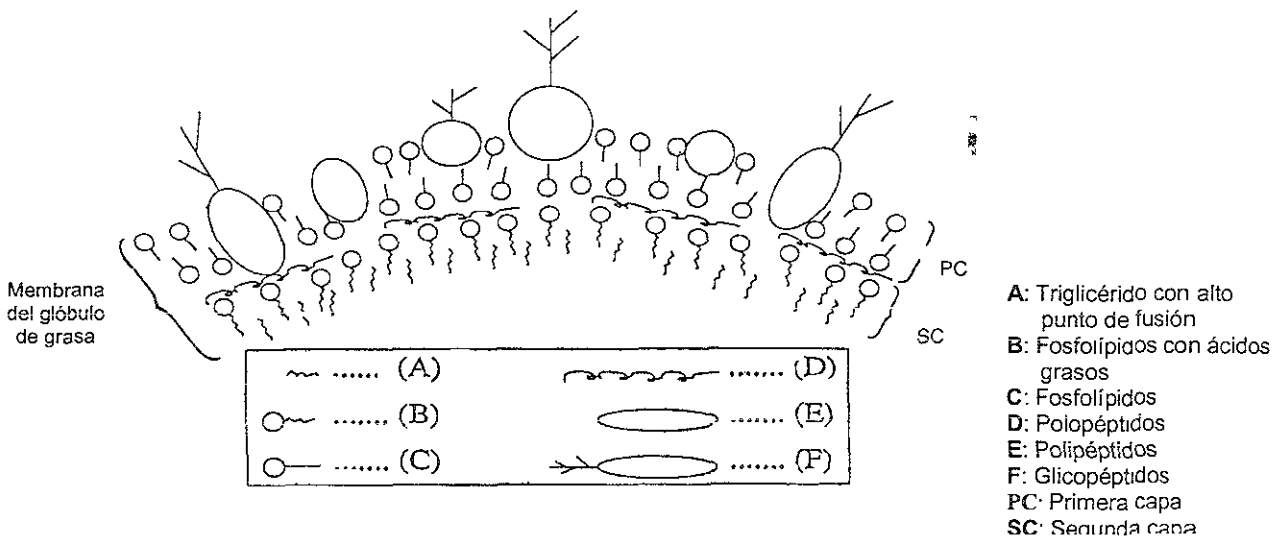
La grasa de la leche tiene una composición compleja. Entre los componentes predominan los triglicéridos, que constituyen el 98% de la grasa láctea y se encuentran pequeñas cantidades de di- y monoglicéridos y ácidos grasos libres. También hay cantidades mensurables de fosfolípidos, colesterol, ésteres de colesterol y cerebrósidos (Varnam y Sutherland, 1995).

Para disminuir la energía libre de superficie de los lípidos en un medio acuoso las moléculas de los lípidos se asocian formando grandes glóbulos esféricos. La mayoría de los glóbulos varían de diámetro entre 2 y 10 $\mu$ m. Alrededor del 60% de los fosfolípidos y del colesterol se hallan en los glóbulos grasos. Muchas de las enzimas con actividades importantes para las propiedades de la leche, como la fosfatasa alcalina, xantina oxidasa, fosfodiesterasa, etc., están asociadas a la membrana. (Fenemma, 1995)

La membrana del glóbulo de grasa está compuesta básicamente por fosfolípidos (Figura 3). Se orientan en grupos no polares en los glóbulos y los grupos hidrofílicos en la fase acuosa para formar una película del grueso de una molécula alrededor de los glóbulos de grasa (Charley, 1997).

La membrana sirve para disminuir la interfase entre los lípidos y el suero, lo cual evita que los glóbulos floculen y coalescan.

<http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/chem.html>.



**FIGURA 3. MEMBRANA DEL GLÓBULO DE GRASA.**  
(CENTRO DE INVESTIGACIÓN DANIEL CARASSO DE DANONE 1995).

### 2.1.3 LACTOSA

La lactosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y otra de galactosa.

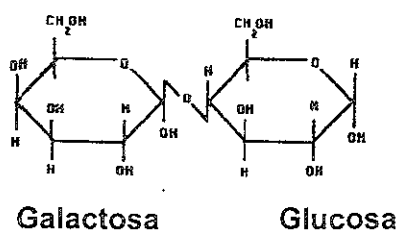


FIGURA 4. MOLÉCULA DE LACTOSA.

([HTTP://WWW.FOODSCI.OUGUELPH.CA/DAIRYEDU/CHEM.HTML](http://www.foodsci.ouguelph.ca/dairyedu/chem.html))

Los carbohidratos presentes en la leche son esencialmente la lactosa y algunos otros que se encuentran en muy bajas concentraciones como la glucosa y la galactosa (0.1%). Este disacárido está compuesto por  $\alpha$  y  $\beta$ -glucosa y  $\beta$ -galactosa; dependiendo del tipo de glucosa que intervenga en la molécula, la lactosa tiene dos formas anoméricas ( $\alpha$  ó  $\beta$ ) que tienen propiedades fisicoquímicas completamente diferentes (solubilidad, refracción de la luz, etc.) (García-Garibay y col. 1993).

La lactosa es un azúcar relativamente poco soluble si la comparamos con la sacarosa; su solubilidad aumenta con la temperatura. La lactosa comercial ( $\alpha$ ) tiene un poder edulcorante cuatro veces menor que la sacarosa. Comparativamente, la lactosa  $\beta$  tiene un poder edulcorante más elevado, además de ser más soluble que la lactosa  $\alpha$  (Riel, 1991).

Una de las principales funciones tecnológicas de este disacárido es que es el sustrato fermentable de las bacterias ácido lácticas, las cuales a partir de la lactosa producen ácido láctico (ventaja competitiva ante las bacterias patógenas) lo cual es el inicio de muchos productos lácteos fermentados.

<http://www.foodsci.uouelph.ca/dairyedu/chem.html>)

#### **2.1.4 VITAMINAS Y MINERALES**

Las vitaminas son sustancias orgánicas esenciales para los procesos biológicos. La leche incluye las vitaminas liposolubles A, D, E y K., y también provee de vitaminas hidrosolubles: B1 – tiamina, B2 – riboflavina, B6 – pirridoxina, B12 – cianocobalamina, Niacina y Ácido pantoténico. También posee vitamina C (ácido ascórbico) la cual fácilmente se destruye por oxidación.

Los minerales más importantes en la leche son los bicarbonatos, cloruros y citratos de calcio, magnesio, potasio y sodio. Todos los minerales se distribuyen entre una fase soluble y una fase coloidal y mientras los iones monovalentes se encuentran en gran parte o en su totalidad en la fase soluble, hasta el 66% de calcio y el 55% de fósforo pueden estar en la fase coloidal. (Varnam y Sutherland, 1995).

#### **2.1.5 ENZIMAS**

Las enzimas son un grupo de proteínas que tienen la habilidad de catalizar reacciones químicas; la actividad enzimática es muy específica, esto es que cada enzima actúa sobre su sustrato. En la Tabla 3 se presentan otras enzimas presentes en la leche:

**TABLA 3 . ENZIMAS PRESENTES EN LA LECHE DE VACA**

<b>OXIDORREDUCTASAS</b>	
Xantina oxidasa	Superóxido dismutasa
Sulfidril oxidasa	Catalasa
Lactoperoxidasa	Diaforasa
<b>TRANSFERASAS</b>	
UDP-	Ribonucleasa
Galactosiltransferasa	$\gamma$ -Glutamilttransferasa
<b>HIDROLASAS</b>	
Proteasa	B-Esterasa
Lipasa	Colinesterasa
Lisozima	Alfa-amilasa
Fosfoproteína fosfatasa	5'-Nucleotidasa
<b>LIASAS</b>	
Aldolasa	Carbónico anhidrasa

Las proteasas y lipasas son particularmente importantes debido a sus efectos sobre el aroma y la estabilidad de las proteínas. Las oxidorreductasas también pueden tener efectos sobre la estabilidad del aroma debido a su influencia sobre el estado oxidativo, particularmente de la fracción lipídica (Fenemma, 1995).

## **2.2 EL QUESO**

### **2.2.1 DEFINICIÓN**

A continuación se presentan dos de las principales definiciones que se manejan principalmente:

- a) Quesos: Productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado ( NOM-121-SSA1-1994 ).
  
- b) Por empleo de técnicas de fabricación que implican la coagulación de la leche y/o de materias primas provenientes de ésta, a fin de obtener un producto terminado que posea las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido anteriormente (A-6 Código de Principios FAO/OMS).

### **2.2.2 HISTORIA DEL QUESO**

El origen del queso se remonta tan lejos como las sociedades organizadas. Desde la domesticación se explotaron ciertos mamíferos, tomaron su leche y persistieron en conservarla. Existen evidencias pictóricas

que se remontan al tercer milenio a.C. que revelan que los sumerios ordeñaban su ganado y transformaban la leche. También en Egipto, en la tumba del faraón Horus-aha se hallaron recipientes con indicios de leche cuajada.

Es muy probable que, históricamente, el primer tipo de queso que se obtuvo fue por vía ácida, al coagularse la leche por precipitación de las caseínas. Posteriormente la cuajada se fraccionó por agitación o por un cortado tosco, y el suero expulsado se eliminó, quedando una masa de sólidos lácteos concentrados.

Sin embargo, es también posible que, según algunas hipótesis, algún nómada en tiempos remotos descubrió el cuajado de la leche, al portar durante su trayecto leche tibia en un odre ("cuero" de rumiante seco y cosido; esto es, de panza). Del paso del cuajado de la leche (en este caso por vía enzimática al actuar la quimosina o pepsina de la panza del rumiante) a la elaboración de un queso sencillo, solo bastaba la separación del suero de la cuajada y la compresión manual de ésta para darle alguna forma.

También se explica el descubrimiento del cuajado enzimático de la leche por el descubrimiento casual (en épocas remotas) de partículas de leche cuajada en el cuajar de un cabrito, cordero o ternero.

Sin duda, logros sustanciales en la fabricación del queso en el plano histórico fueron el secado de la cuajada, el moldeado, el salado y el prensado, procesos todos que mejoraron la capacidad de conservación del producto y su atractivo (Villegas, 1993).

### 2.2.3 CLASIFICACIÓN Y COMPOSICIÓN DE LOS QUESOS

Existen diferentes formas en las que los quesos pueden clasificarse, por su proceso se clasifican en:

#### **A) Frescos**

- Frescales: Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.
- De pasta cocida: Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Del Morral, Adobera.
- Acidificados: Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel.

#### **B) Madurados**

- **Madurados prensados de pasta dura:** Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito.
- **Madurados prensados:** Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental, Cheshire, Holandés, Amsterdam, Butterkase, Coulomiers, Dambo, Erom, Friese, Fynbo, Havarti, Harzer-Kase, Herrgardsost, Huskallsost, Leidse, Maribo, Norvergia, Provolone, Port Salut, Romadur, Saint Paulin, Samsoe, Svecia, Tilsiter, Bola, Jack.
- **De maduración con mohos:** Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie.

#### **C) Procesados:**

- Fundidos y
- Fundidos para untar.(NOM-121-SSA1-1994).



TABLA 4. COMPOSICIÓN GRUESA DE ALGUNOS QUESOS.

Nombre	País	Tipo de pasta	Maduración	Agua %	Sólidos Totales %	Grasa %	Proteína %	Cenizas %	Sal %	pH último
Cottage	U.S.A	Blanda	No	79.0	21.0	4.2	14.0	1.0	1.0	5.0
Petit Suisse	Suiza, Francia	Blanda	No	55.0	45.0	35.0	7.3	1.2	1.0	4.6
Neufchatel	Francia	Blanda	No	62.0	38.0	21.0	12.0	1.1	0.75	4.6
Q. Crema	Varios	Blanda	No	50.0	50.0	50.0	34.0	10.0	1.3	0.75
Camembert	Francia	Blanda	Sí	52.5	47.5	23.0	18.5	3.8	2.5	6.9
Limburger	Bélgica	Blanda	Sí	45.0	55.0	28.0	22.0	4.8	2.0	6.8
Munster	Francia	Blanda	Sí	40.3	57.0	29.0	23.0	4.4	1.8	6.2
Livarot	Francia	Blanda	Sí	48.5	52.5	28.2	20.5	3.7	2.2	6.2
Panela	México	Blanda	No	48.4	51.65	22.5	23.3	2.2	1.8	5.4
Feta	Israel	Blanda	Sí	60.0	40.0	20.2	13.4	2.3	2.2	4.3
Crottin de Chavignol	Francia	Blanda	Sí	59.0	41.0	19.0	16.2	1.8	2.0	6.0
Blue	Dinamarca	Semidura	Sí	42.0	58.0	29.0	21.0	6.0	4.5	6.5
Roquefort	Francia	Semidura	Sí	40.0	60.0	31.0	21.5	6.0	3.5	6.4
Stilton	Inglaterra	Semidura	Sí	49.5	50.5	24.0	19.0	3.0	2.1	5.6
Brick	U.S.A	Semidura	Sí	40.0	60.0	30.0	22.5	4.4	1.9	6.4
Cheddar Americano	U.S.A	Semidura	Sí	37.0	63.0	32.0	25.0	4.1	1.5	5.5
Edam	Holanda	Semidura	Sí	43.0	57.0	24.0	26.0	3.0	2.0	5.7
Gouda	Holanda	Semidura	Sí	41.0	59.0	28.5	26.5	3.0	2.0	5.8
Provolone	Italia	Semidura	Sí	42.5	57.5	27.0	25.0	4.0	3.0	5.4
Mozarella	Italia	Semidura	No	54.0	46.0	18.0	22.0	2.3	0.7	5.2
Diambo	Dinamarca	Semidura	Sí	44.3	55.7	24.7	22.0	3.9	2.0	5.7
Dunlop	Escocia	Semidura	Sí	37.4	62.6	26.7	28.3	4.2	2.0	5.7
Fontina	Italia	Semidura	Sí	42.8	57.2	25.3	24.2	3.3	1.2	5.6
Manchego	España	Semidura	Sí	38.0	62.0	27.0	28.0	3.6	1.5	5.8
Maribo	Dinamarca	Semidura	Sí	43.2	56.8	26.5	25.0	2.6	1.5	5.7
Serra	Portugal	Semidura	Sí	49.0	51.0	27.5	21.0	2.8	1.9	6.5
Sansoe	Dinamarca	Semidura	Sí	40.0	60.0	27.0	26.5	3.7	1.8	5.5
Emmental	Suiza	Dura	Sí	35.5	64.5	30.5	27.5	3.5	1.2	5.6
Grana	Italia	Dura	Sí	31.0	69.0	25.0	36.0	5.4	2.6	5.4
Gruyere	Francia	Dura	Sí	33.5	66.5	30.0	30.0	4.1	1.1	5.7
Romano	Italia	Dura	Sí	23.0	23.0	77.0	24.0	35.0	10.5	5.5
Cantal	Francia	Dura	Sí	34.3	65.7	31.0	27.2	3.0	1.5	5.5
Comte	Francia	Dura	Sí	33.5	66.5	30.0	30.0	4.0	1.1	5.7
Gloucester	Inglaterra	Dura	Sí	36.7	63.3	31.0	27.0	4.3	1.8	5.4
Parmesano	Italia	Dura	Sí	28.5	71.5	28.2	34.2	5.6	2.3	5.5
Pecorino	Italia	Dura	Sí	29.5	70.5	32.6	26.6	7.8	4.7	5.4
Sbrinz	Suiza	Dura	Sí	18.0	82.0	38.0	31.8	4.8	2.0	5.4

(Villegas, 1993)

## **2.2.4 QUESO TIPO PANELA**

### **2.2.4.1 Antecedentes**

Como en la mayoría de los quesos mexicanos, no se sabe con certeza cuál es el origen de este producto. Algunos lo trazan en la región de los Balcanes, en donde se elaboran ciertos quesos rústicos moldeados en cestos; lo mismo sucede en la península itálica. Aún en el mismo nombre de "Panela" es difícil de seguirle la huella, no se sabe si tiene que ver con el nombre de los cestos de pan, si viene de la palabra "panna", que significa crema en italiano o si se asemeja al piloncillo mexicano-producto rústico de la concentración del jugo de caña o guarapo- conocido como "panela" en varias regiones del país.

Sin embargo se puede hipotetizar que el Panela es un queso oriundo realmente de México, pues si bien el ganado y la leche son de origen español, los cestos y los canastillos provienen de las culturas indígenas prehispánicas. (Villegas, 1993)

### **2.2.4.2 Definición y características generales.**

El queso panela es un queso fresco, de pasta blanda, autoprensado elaborado con leche pasteurizada de vaca (ocasionalmente de cabra), entera o parcialmente descremada.

Su composición incluye un porcentaje elevado de agua y es por ello altamente perecedero, de ahí que tenga que conservarse bajo refrigeración. Al comercializarse poco tiempo después de su elaboración muestra un color

blanco brillante, una pasta fácilmente tajable y un sabor lácteo ligeramente agri-salado.

Uno de los rasgos característicos de este queso es el moldeado de la cuajada que se efectúa en típicos cestos o canastos de mimbre, palma o carrizo, en donde adquiere su forma características por autoprensado, durante varias horas (Villegas, 1993).

### 2.2.4.3 Composición del queso Panela

**TABLA 5. COMPOSICIÓN DEL QUESO PANELA PERTENECIENTE A DOS MARCAS DIFERENTES**

MARCA	AGUA %	SOLIDOS TOTALES %	GRASA %	PROTEÍNAS %	CENIZAS %	SAL %	PH
M1	58.0	42.0	20.0	20.0	3.8	2.2	5.5
M2	48.4	51.6	22.5	23.3	2.4	1.8	5.4

Como se observa en la Tabla 5 entre las dos marcas de quesos panela existe una marcada diferencia en cuanto al porcentaje de agua y de sólidos totales. Esto podría explicarse debido a que este tipo de queso puede secarse más o menos intensamente durante el trabajo del grano (Villegas, 1993).

### 2.2.5 QUESO TIPO MANCHEGO

#### 2.2.5.1 Antecedentes

El queso tipo Manchego mexicano tiene (por el tipo de leche que emplea) poco que ver con el Manchego original español que se elabora con

leche de oveja en la región de la Mancha (Toledo, Albacete y Cuenca), en donde su elaboración se realiza de forma artesanal para consumo doméstico.

En todo caso, el tipo Manchego mexicano comparte con el español semejanzas en la forma cilíndrico-plana, el peso entre 2 y 5 kg y el tipo de pasta. No obstante, difiere en el periodo de maduración, pues mientras el mexicano sufre una maduración ligera que no va más allá de 2-3 semanas, comercialmente, el español se afina durante varios meses (hasta 6). Este hecho se traduce en un gusto más pronunciado (agudizado por la grasa de la leche de oveja) y una pasta más rica y suave del auténtico Manchego (Villegas, 1993).

#### **2.2.5.2 Características generales**

En México, el tipo Manchego es un queso elaborado con leche entera (frecuentemente estandarizada con grasa) de vaca, pasteurizada y adicionada con fermentos lácticos mesófilos tales como *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*.

Puede clasificarse como un queso de pasta semidura prensada, no cocida, tajable y madurada. Cuando madura presenta un color amarillo pálido atractivo, una textura suave y un sabor-aroma muy agradable.

Este es uno de los quesos más apreciados por los consumidores mexicanos en todo el país, sobre todo en el medio urbano. En algunos procesos de elaboración, se puede sustituir parte del suero por agua tibia, lo que se traduce en una pasta lavada, susceptible de maduración más rápida.

### 2.2.5.3 Composición

Una composición básica, representativa de la calidad comercial de queso tipo Manchego mexicano se muestra la tabla 6.

**TABLA 6. COMPOSICIÓN BÁSICA DEL QUESO TIPO MANCHEGO MEXICANO\***

Agua %	Sólidos Totales %	Grasa %	Proteínas %	Cenizas %	Sal %	pH
41.0	58.3	29.4	22.5	3.8	2.4	5.4

\*Promedio de 10 marcas comerciales.  
(Villegas, 1993)

## 2.3 ETAPAS EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO

Se pueden distinguir cinco operaciones fundamentales comunes en la fabricación de quesos: la preparación de la leche, la coagulación, el desuerado, moldeo y prensado el salado y la maduración (García-Garibay y col. 1993).

### 2.3.1 PREPARACIÓN DE LA LECHE

#### 2.3.1.1 Estandarización

La estandarización se ha basado simplemente en la adición de leche desnatada, crema o el desnatado de la leche a cuajar. Las razones por las que se aconseja estandarizar la leche son: el tener la misma calidad en el queso a pesar de las variaciones nutricionales en la composición de la leche y razones económicas que han aconsejado la elaboración de quesos con diversos contenidos de grasa entre otras. (Scott,1991).

### **2.3.1.2 Pasteurización**

En la elaboración de quesos la pasteurización es obligatoria en la mayoría de los casos. Las misiones que se consideran más importantes en la pasteurización son:

- 1) Destrucción de microorganismos patógenos perjudiciales para la salud del consumidor.
- 2) Reducción del número total de bacterias presentes, con lo que se puede prolongar su periodo de consumo y utilización.
- 3) Inactivación de ciertas bacterias y enzimas perjudiciales en la elaboración de quesos. Por otro lado, también hay que destacar la destrucción de bacterias y enzimas beneficiosas (Madrid, 1994).

### **2.3.1.3 Homogeneización**

El proceso de homogeneización de la leche contribuye a una reducción del tamaño de los glóbulos grasos y a una distribución más uniforme, lo que hace que la cuajada se vuelva más homogénea (Dumais y col. 1991).

### **2.3.1.4 Maduración de la leche**

Además de la necesidad de reestablecer los equilibrios fisicoquímicos eventualmente por un mantenimiento de la leche en frío, la maduración tiene como finalidad esencial el hacer que la leche adquiera las máximas cualidades

como medio de cultivo para los fermentos lácticos y el evitar la implantación eventual de microorganismos perjudiciales: patógenos o tecnológicamente peligrosos. Así, se ha visto que la maduración de la leche ha permitido no únicamente acelerar las operaciones tecnológicas, si no también intensificar los procesos bioquímicos que se desarrollan durante el afinado de los quesos (Richard y col.1990).

### **2.3.2 COAGULACIÓN**

La coagulación de la leche que se traduce en la formación de un gel, es el resultado de las modificaciones bioquímicas y físicoquímicas que intervienen a nivel de las micelas de caseína; los mecanismos que intervienen en la formación del coágulo difieren totalmente dependiendo si son modificaciones inducidas por la acidificación o bien, por la acción de enzimas coagulantes (Nöel, 1990).

#### **2.3.2.1 Coagulación por acidificación**

Esta forma de coagulación de las caseínas implica la acción de ácidos orgánicos tales como el láctico, el acético o el cítrico, primero sobre las micelas caseínicas y luego sobre las moléculas de caseína o las submicelas.

El fundamento de la precipitación se da en la desmineralización gradual de las micelas al migrar el calcio y los fosfatos hacia la fase acuosa por acción de iones hidrógeno ( $H^+$ ) proporcionados por el ácido. Si se alcanza un pH alrededor de 4.7 las moléculas de caseína precipitan al arribar a su punto isoeléctrico. Así una cuajada obtenida por vía ácida estará prácticamente

desmineralizada, en tanto que el suero contendrá una elevada concentración de minerales (calcio, fósforo, magnesio, potasio, etc.) (Villegas 1993).

### **2.3.2.2 Coagulación por la acción de enzimas**

El cuajo, mezcla de quimosina y pepsina excretado en el estómago de los rumiantes lactantes, es la enzima coagulante mejor conocida y que permite la obtención de quesos de mayor calidad.

Se distinguen dos etapas en el proceso de la coagulación de la leche:

- ◆ Fase primaria, enzimática, durante la cual el cuajo ataca al componente estabilizante de la micela,  $\kappa$ -la caseína, con liberación de un péptido, el caseinomacropéptido. Corresponde a la hidrólisis de la  $\kappa$ -caseína en un determinado enlace peptídico: el enlace Phe<sub>105</sub> – Met<sub>106</sub>. La cadena de la  $\kappa$ -caseína se encuentra cortada en dos segmentos: el segmento 1-105 corresponde a la para- $\kappa$ -caseína; el segmento 106-169 al caseinomacropéptido (Bruler y Lenoir, 1990).
- ◆ Fase secundaria, fase de coagulación que corresponde a la formación del gel por asociación de las micelas de caseína modificadas bajo la acción de la enzima.

La liberación del caseinomacropéptido y su paso al suero determina una disminución importante de la carga de las micelas y también de su grado de hidratación. Los dos factores de estabilidad se ven de esta manera afectados, pudiéndose en esta nueva situación establecer enlaces intermicelares que



conducen a la formación del gel. La agregación no empieza hasta que el 85-90% de la  $\kappa$ -caseína ha sido hidrolizada (Bruler y Lenoir, 1990).

### **2.3.2.3 Factores de coagulación por el cuajo**

Existen diversos factores por los cuales se ve afectada la etapa de coagulación entre los que se encuentran:

**A) Concentración de la enzima:** El tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la cantidad de enzima. La concentración de la enzima influye también sobre los caracteres reológicos del gel, especialmente en su velocidad de endurecimiento, su dureza máxima y su elasticidad (Bruler y Lenoir, 1990).

**B) Temperatura:** por debajo de 10°C, la coagulación de la leche no se produce. En el intervalo de 10-20°C, la velocidad de coagulación es lenta.

Por encima de 20°C, aumenta progresivamente hasta 40-42°C; posteriormente empieza a disminuir conforme va aumentando la temperatura. Hay que hacer notar que la temperatura influye también sobre la velocidad de endurecimiento del gel (Bruler y Lenoir, 1990).

**C) pH:** el tiempo de coagulación es más corto y el gel más duro a medida que el pH desciende por debajo del pH normal de la leche. Contrariamente, a pH elevado, superior a 7, no se produce la coagulación (Bruler y Lenoir, 1990).

D) **Calcio soluble:** La presencia del ión da como resultado el aumento en la velocidad de coagulación y también el aumento en la dureza del gel. (García-Garibay y col. 1993).

### **2.3.3 DESUERADO**

El desuerado se presenta en dos fases. La primera es el desuerado propiamente dicho o desuerado principal, durante el cual la mayor parte del lactosuero es eliminado; esta fase se sitúa entre el fin de la coagulación y el final del moldeado. La segunda es el desuerado complementario que va desde que se saca del molde hasta el inicio de la maduración; esencialmente es debido a la operación del salado, y secundariamente al oreado. El papel del desuerado no se limita a la obtención de un coágulo con una determinada cantidad de agua; permite también la regularización de la mineralización de la cuajada y del nivel de lactosa en la misma, lo que posteriormente traerá consecuencias en características fisicoquímicas y sensoriales del producto final (Weber, 1990).

#### **2.3.3.1 Mecanismos del desuerado**

Los mecanismos fundamentales del desuerado son distintos según si el coágulo obtenido sea de tipo enzimático o del tipo ácido.

##### **A) Coágulo obtenido por acción enzimática**

La sinéresis de los coágulos de tipo enzimático puede ser considerada como el resultado de una interacción continua proteína-proteína debido a la formación de diversos enlaces como resultado de la reducción del agua de

hidratación que rodea las micelas. Para favorecer el desuerado, es necesario multiplicar la superficie de exudación a través del cortado de la cuajada (Weber, 1990).

#### **2.3.4 SALADO**

Habitualmente se reconoce que el cloruro de sodio adicionado a los quesos posee los siguientes papeles: completa el desuerado del queso favoreciendo el drenaje de la fase acuosa libre de la pasta; modifica, igualmente, la hidratación de las proteínas e interviene en la formación de la corteza y aporta su gusto característico y la propiedad de potenciar o de enmascarar el sabor de determinadas sustancias que aparecen a lo largo de la curación del queso.

La función más importante del salado es la de regular la fase de maduración. La sal se encuentra solubilizada en la fase líquida del queso y tiende a disminuir la actividad del agua (Hardy, 1990).

El salado se puede realizar sobre la superficie del queso, por baño en salmuera o por aplicación directa de la sal en seco (García-Garibay y col. 1993).

#### **2.3.5 MADURACIÓN**

La transformación del coágulo de caseína en queso resulta de la acción de dos grupos de factores: internos y externos. Los primeros incluyen las propiedades fisicoquímicas del coágulo y los agentes de maduración (microorganismos y enzimas).

Los segundos son las condiciones del ambiente que dirigen la actividad de los agentes de maduración para obtener las características deseables de cada queso. Entre las propiedades del coágulo que tiene más influencia directa sobre el desarrollo de la maduración se encuentran el pH y la actividad del agua (García-Garibay y col. 1993).

#### **2.3.5.1 pH**

Al principio de la maduración el pH se asocia a los tratamientos previos; éste puede ir de 4.3 a 4.5 para los quesos frescos hasta 5.0 a 5.2 para los quesos prensados y cocinados. En la maduración el pH tiende a subir por el consumo de ácido láctico y formación de compuestos alcalinos. Así pues, el pH determina el desarrollo de microorganismos, la actividad enzimática y la textura del queso (García-Garibay y col., 1993).

#### **2.3.5.2 Actividad del Agua (Aw)**

La actividad del agua (Aw) es un factor muy importante para el desarrollo de los microorganismos y la acción de las enzimas, la disminución de la actividad del agua disminuye la actividad enzimática, aumenta la duración de la fase de latencia de los microorganismos y disminuye selectivamente su velocidad de crecimiento (Hardy, 1990).

#### **2.3.5.3 Temperatura**

Entre los factores externos está la temperatura, la que determina en buena medida el desarrollo de microorganismos y la actividad enzimática.

#### **2.3.5.4 Lactosa**

La lactosa puede ser metabolizada por numerosos microorganismos presentes en la leche y quesos. La molécula, después de haber penetrado en la célula microbiana, es hidrolizada en glucosa y galactosa. Estos dos azúcares son degradados a continuación siguiendo diferentes rutas metabólicas, siendo las principales la vía de las hexosas difosfato y la de la pentosa fosfato.

1) Vía glicolítica de las hexosas difosfato: el ácido pirúvico es totalmente reducido a ácido láctico (fermentación). Esta vía "homoláctica" en la cual cuatro moléculas de ácido láctico se forman a partir de una molécula de lactosa metabolizada, es la seguida en los estreptococos lácticos y en la mayoría de los lactobacilos.

2) Vía de las pentosa-fosfato: formación de dos moléculas de ácido láctico por cada molécula de lactosa formándose también una molécula de CO<sub>2</sub>, de etanol y de ácido acético. Esta vía "heteroláctica" se sigue en el caso de los leuconostoc y de los lactobacilos heterofermentativos (Ramet, 1990).

#### **2.3.5.5 Materia grasa**

En la maduración de los quesos, las bacterias lácticas junto con la flora de la leche son responsables de una lipólisis limitada. Se considera actualmente que los ácidos grasos de cadena corta y mediana contribuyen al aroma y sabor "de fondo" de este tipo de quesos pero no contribuyen a notas características (Choisy, 1990).

### **2.3.5.6 Proteínas**

Las proteínas se hidrolizan durante la maduración por la acción combinada de diferentes proteasas presentes en el coágulo: nativas, coagulantes y microbianas (García-Garibay y col. 1993).

Las proteínas juegan un papel mayoritario en la textura de los quesos dado que ellas representan la única fase sólida continua de éstos. En los quesos de pasta prensada, la proteólisis conduce a la formación de una pasta menos dura y menos elástica.

El aroma de los quesos resulta de la degradación de aminoácidos debida a la proteólisis. Los compuestos azufrados proceden fundamentalmente de la degradación de metionina (Choisy, 1990).

## **2.4 CONCENTRACION DE SÓLIDOS**

Parece que la idea de emplear leche en polvo desnatada en quesería fue emitida, por primera vez, por dos investigadores neozelandeses, Hansen y Theophilus, en 1930; sin embargo, las primeras aplicaciones industriales tuvieron lugar a partir de 1950, especialmente en Francia donde, desde 1952, importantes cantidades de leche desnatada en polvo fueron regularmente empleadas para la fabricación de quesos de pasta blanda (Cherrey, 1990).

El empleo de leche en polvo permite una reconstitución de la leche a un porcentaje de materia seca superior al de la leche fresca.

El aumento del contenido de calcio, disuelto e iónico, implica un desplazamiento del fosfato cálcico desde la fase acuosa a la fase micelar y, por consecuencia, un aumento de la carga mineral de la micela. El aumento de la concentración salina de la fase acuosa tiene como consecuencia un descenso sensible del pH y una reducción del grado de hidratación de las micelas. Es normal observar en las leches concentradas un tiempo de coagulación más corto, una velocidad de endurecimiento más grande y una dureza máxima del gel más elevada.

La utilización de leche concentrada en quesería se traduce en un incremento sensible del rendimiento. En fabricación industrial de quesos de pasta blanda, el aumento de rendimiento en materia seca desgrasada ha sido estimado en un 10%.

Las causas de estos incrementos son diversas:

- El aumento en la concentración en materia seca del lactosuero retenido
- Una mineralización de la pasta más elevada, que se traduce en fabricación industrial en una reducción de las pérdidas de cuajada en el suero
- Una mejor retención de la materia grasa debido a la modificación de la membrana del glóbulo graso (incorporación de caseína en el seno de la membrana que posee como consecuencia una integración del glóbulo graso en el retículo proteínico en lugar de un simple atrapado mecánico) (Richard y col. 1990).

## **2.5 BACTERIAS LÁCTICAS**

### **2.5.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES Y CLASIFICACIÓN**

Las bacterias ácido lácticas son microorganismos bastante heterogéneos atendiendo a su morfología y fisiología, que se caracterizan por una producción de cantidades importantes de ácido láctico como resultado del metabolismo de los hidratos de carbono (fermentación láctica). Sus formas son principalmente cocos (esferas), bacilos (bastones) y ovoides; estas bacterias agrupan a un determinado número de especies pertenecientes a las familias *Streptococcaceae* y *Lactobacillaceae* (Ramet y col. 1990).

Son bacterias Gram positivas, inmóviles, asporógenas, no pigmentadas, no reductoras de nitratos, no productoras de catalasa. Son anaerobias pero aerotolerantes (Ramet y col. 1990). Pueden ser divididas en categorías generales, dependiendo de sus productos metabólicos finales o de su temperatura óptima de crecimiento.

Las bacterias lácticas homofermentativas producen ácido láctico como su principal producto en un alto porcentaje (70-90%) mientras que las heterofermentativas producen otros compuestos como ácido acético, etanol y CO<sub>2</sub>, además de también producir ácido láctico pero en una menor proporción (50%) que las homofermentativas. Existen bacterias lácticas mesofílicas, cuya temperatura óptima de crecimiento está entre 25-30°C (tabla 7), mientras que las bacterias termofílicas prefieren crecer entre 40-44°C además de crecer más rápido que las mesofílicas. El ácido láctico representa uno de los principales productos metabólicos producto de la fermentación de la lactosa



**TABLA 7 PRINCIPALES BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS UTILIZADAS EN PRODUCTOS LÁCTEOS, MORFOLOGÍA, FISIOLOGÍA Y PRINCIPALES PRODUCTOS METABÓLICOS**

GÉNERO	FORMA	T. ÓPTIMA	ESPECIE	PRODUCTOS FINALES PRINCIPALES	PRODUCTOS SECUNDARIOS
<i>Streptococcus</i>	Cocos	40-44 °C	<i>S.thermophilus</i>	Ácido láctico L(+)	Acetaldehído, acetona, acetoina, diacetilo etanol
			<i>Lb.bulgaricus</i>	Ácido láctico D(-)	Acetaldehído, acetona, diacetilo, etanol
			<i>Lb.helveticus</i>	Ácido láctico DL	Acetaldehído, ácido acético, diacetilo, etanol
<i>Lactobacillus</i>	Bacilos	25-30 °C	<i>Lb.lactis</i>	Ácido láctico D(-)	Acetaldehído, acetona, diacetilo, etanol
			<i>Lb.acidophilus</i>	Ácido Láctico DL	Ácido, acetaldehído, etanol
			<i>Lb.casei</i>	Ácido láctico L(+)	Acido acético, etanol
			<i>Lb.kefir</i>	Ácido láctico DL	Ácido acético, acetaldehído, etanol, CO <sub>2</sub> .
			<i>Lc.lactis</i>	Ácido láctico L(+)	Acetaldehído, acetona, diacetilo, etanol
<i>Lactococcus</i>	Cocos	25-30 °C	<i>Lc.cremoris</i>	Ácido láctico L(+)	Acetaldehído, acetona, diacetilo, etanol
			<i>Lc.diacetylactis</i>	Ácido láctico L(+), acetaldeído, diacetilo, acetoina, CO <sub>2</sub>	Acetona, etanol
<i>Pediococcus</i>	Cocos	25-30 °C	<i>P.acidilactici</i>	Ácido láctico DL	Acetoina, diacetilo
<i>Leuconostoc</i>	Ovoide	25-30 °C	<i>Ln.cremoris</i>	Ácido láctico D(-),	Etanol
			<i>Ln.dextranicum</i>	acetoina (ácido acético), diacetilo, CO <sub>2</sub> .	
<i>Bifidobacterium</i>	Bacilos o bifidos	35-38 °C	<i>B.brevis</i>	Ácido láctico L(+)	Ácido fórmico, ácido succínico, acetaldehído, acetona, acetoina, diacetilo, etanol
			<i>B.bifidum</i>		
			<i>B.longum</i>		
			<i>B. infantis</i>	ácido acético.	

( [http://www.danonenewsletter.fr/eng/news\\_5/tb1nw5.html](http://www.danonenewsletter.fr/eng/news_5/tb1nw5.html) )

### **2.5.2 CONDICIONES ÓPTIMAS DE NUTRICIÓN Y METABOLISMO DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.**

Las bacterias lácticas son microorganismos complejos, con necesidades nutrimentales variadas. Requieren carbohidratos, principalmente lactosa y glucosa como fuente de energía proveniente del carbono, para producir ATP. Las proteínas de la leche, péptidos, aminoácidos específicos y derivados de ácidos nucleicos son también necesarios para suministrar el nitrógeno necesario para la síntesis de proteínas.

Muchas vitaminas, en particular el complejo B, son también necesarias para la catálisis de las reacciones enzimáticas, aunque existen variedades en las necesidades de ciertos minerales y vitaminas entre las especies.

Las bacterias lácticas no pueden sintetizar ciertos aminoácidos, y por ello la proteólisis de las proteínas y los péptidos del sustrato son necesarias para su crecimiento. Poseen enzimas proteolíticas aunque solo un 2% de caseína es degradada durante la fermentación.

A continuación se presenta la figura 5 en donde se muestran las principales rutas metabólicas de los carbohidratos de las bacterias lácticas.



se asocia en cadenas, homofermentativo y productor de ácido láctico a partir de glucosa, fructosa, lactosa o sacarosa, su temperatura óptima de crecimiento es entre 40-45 °C, aunque pueden crecer a temperaturas de 50°C (Villegas, 1995).

Entre ambos microorganismos existe una asociación protocooperativa en donde *Lactobacillus bulgaricus* libera al medio glicina, histidina, leucina, isoleucina y valina, siendo éste el que más estimula el crecimiento de *St. thermophilus*. Este último produce ácido fórmico como factor estimulador para el crecimiento de *Lactobacillus bulgaricus* (Zourari y col. 1992).

### 2.5.3 Cultivos iniciadores

En la fabricación de productos lácteos, se adicionan como cultivos fermentadores bacterias lácticas cuyo papel primordial es la producción de ácido láctico. Este ácido es responsable del sabor fresco y ácido de los quesos sin madurar y es de gran importancia en la formación y características texturales de la cuajada.

Además los cultivos iniciadores desempeñan otras acciones fundamentales como son la producción de compuestos aromáticos volátiles como diacetilo y aldehídos; la síntesis de enzimas proteolíticas y lipolíticas que intervienen en la maduración del queso y la eliminación de los microorganismos patógenos. Las bacterias lácticas más utilizadas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* (*delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *lactis*, *helveticus*), *Lactococcus* (*lactis* subsp. *cremoris*, *lactis* y *lactis* biovar *diacetylactis*), *Leuconostoc* (*mesenteroides* subsp. *cremoris*) y *Streptococcus* (*salivarius*

subsp. *thermophilus*). Durante este proceso existen varias etapas dentro de las cuales están:

### *Metabolismo de la Lactosa*

**Metabolismo proteico:** la actividad proteínica da lugar a una hidrólisis de las proteínas además, las enzimas proteolíticas derivadas de los microorganismos iniciadores contribuyen también a la maduración del queso.

**Metabolismo del citrato:** las únicas bacterias capaces de metabolizar el citrato son *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* y las especies de *Leuconostoc*. Esta es una propiedad muy importante ya que los productos resultantes, como diacetilo y acetato son responsables del desarrollo del aroma en quesos frescos y en menor grado también los madurados. En los quesos tipo Suizo, el CO<sub>2</sub> producido por el metabolismo del citrato es responsable de la formación característica de ojos característicos.

Particularmente los cultivos iniciadores para la elaboración de queso pueden clasificarse de muchas formas distintas. Por ejemplo, los propios microorganismos pueden clasificarse según su temperatura óptima de crecimiento. Los cultivos iniciadores mesófilos incluyen *Lactococcus* y *Leuconostoc* y tienen una temperatura óptima de crecimiento de 30°C, mientras que los cultivos iniciadores termófilos incluyen especies de *Lactobacillus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* con una temperatura óptima mayores de 40-45°C. En cada caso, los cultivos mixtos pueden estar constituidos por cepas únicas, pares o múltiples.

## **2.6 BACTERIAS LÁCTICAS FILANTES**

### **2.6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES**

Algunos tipos de bacterias son capaces de sintetizar polisacáridos los cuales son definidos de acuerdo a su localización relativa en la célula. Algunos de éstos están ubicados intracelularmente en el citosol y son utilizados como fuente de carbón, otros son constituyentes de la pared celular como los peptidoglicanos y ácidos teicoicos y existe un tercer grupo localizado fuera de la pared celular. Este último grupo puede tomar forma adherente, frecuentemente unido de manera covalente formando una capa llamada comúnmente cápsula o polisacárido capsular. Alternativamente el polímero puede consistir en un polisacárido mucoide asociado (ligeramente) o no a la célula. En algunos casos ambos polisacáridos (el capsular y el no asociado a la célula) son producidos por el mismo microorganismo y el distinguir uno del otro resulta difícil (Cerning, 1995).

Estos polisacáridos se encuentran ampliamente distribuidos, especialmente entre especies procariontes, entre los que se encuentran saprófitos de vida libre, patógenos de hombres, de animales y plantas y algunas microalgas (Sutherland, 1990).

Los polisacáridos extracelulares parecen ser esenciales para la supervivencia de los microorganismos que los producen. La capacidad para producir exopolisacárido está directamente ligada a un proceso de selección natural.

La capacidad de los microorganismos para rodearse a ellos mismos de una capa de polímero altamente hidratada puede proveerlos de protección contra la desecación y la depredación de los protozoarios además de tener propiedades de difusión tanto en el interior como en el exterior de la célula. También actúan contra los agentes antibacteriales como los antibióticos.

Existen diversas bacterias que producen este tipo de polímero, algunas de ellas son bacterias lácticas, dentro de las cuales están: *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* y *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *St. mutans*, *St. salvarius*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *St. thermophilus*.

## **2.7 EXOPOLISACÁRIDOS**

### **2.7.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ESTRUCTURA**

Los exopolímeros son polisacáridos compuestos por unidades repetidas (o ramas), las cuales contienen uniones  $\alpha$  y  $\beta$ . Su composición monomérica parece ser notablemente similar, la D-glucosa, D-galactosa y L-ramnosa están siempre presentes, pero en distintas proporciones. Se tiene reportado que incluso una misma cepa puede producir más de un solo tipo de polímero. Grobber y col. (1995) reportan una composición diferente de un exopolímero producido por una misma cepa; esto depende de las condiciones de fermentación y del medio en que está creciendo el microorganismo (De Vuyst y Degeest, 1999).

Estas moléculas pueden estar formadas por uno solo o varios tipos de monosacáridos denominándose como homopolisacáridos y heteropolisacáridos, existiendo en formas lineales o ramificadas. La diversidad estructural se deriva del amplio rango de componentes que pueden formar parte de su estructura y es incrementada por el tipo de sustituyentes y por el tipo de enlaces que los forman (Villegas, 1993).

Particularmente el exopolisacárido producido por *Streptococcus thermophilus* está compuesto por D-galactosa, D-glucosa y 2-acetamino-2-deoxi-D-galactosa en una proporción molar de 2:1:1 (De Vuyst y Degeest, 1999).

Los exopolisacáridos tienen una masa molecular en el rango de  $4.0 \cdot 10^4$  a  $6.0 \cdot 10^6$ . La masa molecular es uno de los factores determinantes en las propiedades funcionales de los exopolisacáridos. Aunque, las propiedades físicas y reológicas de los polisacáridos en solución están íntimamente relacionadas con su estructura tridimensional y su conformación, otros factores como la forma de la molécula puede ser importante para entender su comportamiento en solución.

La conformación secundaria y terciaria de los polisacáridos es dependiente de su estructura primaria. Imperceptibles cambios en esta estructura dan lugar a efectos en la conformación y propiedades del polímero, lo cual a su vez puede ser un factor de cambios en las propiedades de textura que éstos confieren (De Vuyst y Degeest, 1999).



### **2.7.2 CONDICIONES ÓPTIMAS DE PRODUCCIÓN**

Los factores principales que afectan la producción de polímero son: la naturaleza y concentración del azúcar disponible en el medio durante la fase de crecimiento (ya que esto puede cambiar el tipo y/o cantidad de polímero), el pH externo y la temperatura de crecimiento (Gancel y Novel, 1994).

Muchas investigaciones muestran que a bajas temperaturas se induce una mayor producción del polímero; este efecto se explica, basados en la producción de polímero por bacterias gram negativas, en el hecho de que un crecimiento lento de las células da lugar a una biosíntesis de los polímeros de la pared celular mucho más lenta, haciendo a las moléculas acarreadoras de lípidos isoprenoides disponibles para la biosíntesis de exopolisacárido (De Vuyst y Degeest, 1999).

La aereación no es requerida, ya que la mayor cantidad de polímero es obtenida con una tensión baja de oxígeno igualmente en condiciones de anaerobiosis (De Vuyst y Degeest, 1999).

Con respecto a las condiciones de pH Van der Berg y col. (1995) postularon que la conversión de azúcar a exopolisacárido es más eficiente a un pH de 6.2. Gasseem y col. (1997) sugieren que el mantener el pH alto puede resultar en un aumento en la producción del polímero debido a que se incrementa el tiempo del microorganismo en la fase exponencial de su crecimiento.

Parece ser que el efecto en un ajuste de pH en la producción del exopolisacárido es mayor que al realizar complementos en los nutrientes del medio. Esto puede ser un factor limitante de importancia en la industria considerando que en la producción de leches fermentadas, los procesos se llevan a cabo bajo condiciones de pH libres (De Vuyst y Degeest, 1999).

A pesar de que se ha observado una mayor producción de polímero y de células al agregar al medio de cultivo caseína, (García-Garibay y Marshall, 1991) no se tiene la certeza de que estas proteínas ayuden a una mayor producción del polisacárido.

Para algunas bacterias se ha demostrado que un balance óptimo entre las fuentes de carbono y nitrógeno son absolutamente necesarios para lograr altos rendimientos en la producción del polímero. Existe la posibilidad de que otros componentes del medio, como minerales, aminoácidos o algunas bases y vitaminas afecten la composición del exopolisacárido producido. Se sabe que los requerimientos de minerales afectan la producción, también las vitaminas juegan un papel importante en ello. En contraste a la omisión de algunos aminoácidos, se ha demostrado que la falta de varias vitaminas afecta la producción de polisacárido, aunque el requerimiento observado hacia las vitaminas puede ser dependiente de la presencia de lípidos en el medio. (De Vuyst y Degeest, 1999).

En un medio de leche, *St. thermophilus* es capaz de sintetizar exopolisacárido como cultivo solo o en conjunto con alguna cepa del género *Lactobacillus* (por ejemplo *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*).

La mayor parte de las bacterias mucosas que producen polisacárido extracelular lo hacen en prácticamente todos los medios de crecimiento, pero la máxima producción del polímero se realiza en condiciones de crecimiento particulares en un medio definido.

Todos los parámetros que aumentan o disminuyen la velocidad de crecimiento del microorganismo afectan los precursores que dan lugar al polisacárido y por tanto, su síntesis (Gancel y Novel, 1994).

### **2.7.3 APLICACIONES**

El descubrimiento de *Leuconostoc mesenteroides* en 1878 como bacteria productora de polímero extracelular responsable del espesor del jarabe de azúcar de caña puede ser considerado como el inicio en el uso de estas bacterias en la industria de alimentos. El uso de xantana de *Xantomonas campestris*, el primer polisacárido microbiano permitido en alimentos fue aprobado por la FDA en 1969.

Una alternativa en la aplicación de muchos biopolímeros es como agentes gelificantes, también se han utilizado para mejorar la viscosidad del yogurt y para disminuir la sinéresis. Tanto *St. thermophilus* como *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* son dos de las bacterias filantes que es común encontrar en la industria láctea especialmente en la manufactura del yogurt (Cerning y col. 1990), el polímero producido da ciertas características reológicas y organolépticas al producto, como es el darle cuerpo al yogurt y resaltar la suavidad del mismo (Cerning y col. 1988).

Los cultivos filantes pueden contribuir a la consistencia de yogurt líquido hecho a gran escala, ya que este tipo, realizado con un cultivo filante, es propenso a tener menor daño mecánico en las máquinas y bombas durante el proceso de mezclado y llenado. Además, el coágulo es más resistente a los choques físicos y térmicos, lo cual le da la ventaja sobre aquellos que tienen que utilizar estabilizantes.

Este tipo de producción ha incrementado popularidad en el occidente, ya que los consumidores quieren alimentos 100% naturales, además de ello también se ha visto su posible uso en queso Mozzarella bajo en grasa (Perry y col. 1995).

## Capítulo 3

### Materiales y Métodos

---

#### 3.1 LECHE

Para la realización del queso tipo panela se utilizó leche bronca (FES Cuautitlán UNAM) la cual fue pasteurizada (por el método de bajo tiempo y baja temperatura, 30 min a 65°C).

Para realizar el queso tipo manchego se utilizó leche de vaca comercial (BOREAL) entera y homogeneizada (cuya composición es de 30 g/l de grasa y 30 g/l de proteína).

#### 3.2 MICROORGANISMOS

Para realizar este proyecto se utilizaron la cepa filante *Streptococcus thermophilus* SY-102 de chaquirá (National collection of food bacteria Reading Inglaterra) y como control un cultivo comercial (RA-024, Rhone-Poulenc) que contiene tres microorganismos lácticos: *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*.

La cepa filante fue resembrada cada 2 semanas en Leche Tornasolada Milk (Michigan. USA) a 42 °C durante 18 horas y posteriormente almacenada a 4°C.

### **3.3 CULTIVOS INICIALES**

Para sembrar los inóculos iniciales de ambas cepas se utilizó leche en polvo descremada (Nestlé México) con sólidos al 10%, la cual fue esterilizada 5 minutos a una temperatura de 121°C y fue inoculada en fermentada con los microorganismos a 42°C durante 18 horas. El cultivo filante fue sembrado en leche descremada previamente esterilizada directamente de un tubo. El cultivo control fue sembrado primero de la cepa comercial (vacuando una pequeña cantidad de polvo con la mezcla de los microorganismos) para ser utilizado posteriormente como cultivo madre resembrando (2 asadas) en un matraz esterilizado que contenía leche descremada (200 mL) y fermentado a las mismas condiciones anteriores.

### **3.4 ELABORACIÓN DEL QUESO PANELA Y MANCHEGO**

A continuación se describe el proceso general de elaboración de los quesos y se especificarán los pasos en los cuales exista diferencia en la manufactura de ambos tipos.

#### **3.4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE**

Para la elaboración del queso panela con 17% de sólidos totales, se midió en todos los casos el índice de refracción de la leche, con el fin de saber

la cantidad de leche en polvo que se debía agregar. La leche no comercial tuvo un índice de refracción de 1.3426 (sin adición de sólidos).

Para la elaboración del queso manchego con 17% de sólidos totales, también se realizó la misma técnica de medición del índice de refracción, en todos los casos ésta fue de 1.3410 en la leche comercial (Boreal) sin adición de sólidos.

### **3.4.2 FERMENTACIÓN**

Para cada lote de elaboración de quesos se emplearon tres litros de leche la cual fue vaciada en vasos de precipitado de un litro previamente estériles. Se agregó cloruro de calcio a la leche en una concentración de 0.2%. Se calentó la leche a 37°C y se inocularon los matraces de leche que serviría como control con 2% de inóculo mientras que la utilizada con la cepa filante tenía 2% del cultivo control y 0.7% de la cepa filante. Se realizó la fermentación a 37°C en un periodo comprendido entre 2 y 3 horas.

#### **3.4.2.1 Medición de pH y acidez**

Para la medición del pH se utilizó un potenciómetro (Conductronic 20) y se calibró con un buffer de fosfatos de pH 7 (Hycel de México). Se tomaron 10 mL de leche, sumergiendo en ella el potenciómetro ya calibrado y realizando la lectura correspondiente.

Para medir la acidez se tomaron 9 mL de leche y se titularon con sosa 0.1 N (valorada con ácido Clorhídrico 0.1 N Sigma) utilizando unas gotas de

fenoftaleína como indicador (Sigma) y cuyo valor fue calculado de la siguiente manera:

$$\% \text{ Ácido láctico} = \frac{(N_{\text{NaOH}}) (\text{meq Ácido láctico}) (\text{mL}_{\text{NaOH}}) \times 100}{\text{mL muestra}}$$

Donde :

$N_{\text{NaOH}}$  = Normalidad del Hidróxido de sodio utilizado.

meq. Ácido láctico = Miliequivalentes de ácido láctico cuyo valor es de 0.09.

Las tomas de las muestras se realizaron cada 30 minutos a lo largo del periodo de fermentación y fueron hechas por triplicado.

#### **3.4.2.2 Medición indirecta (o aparente) de la producción de exopolisacárido**

Esto se realizó registrando los cambios en la viscosidad (en centipois) de la leche durante la fermentación (cada 30 minutos) usando un viscosímetro Brookfield DV II+ utilizando un vástago número 2 y a una velocidad de 100 revoluciones por minuto.

#### **3.4.3 COAGULACIÓN DE LA LECHE**

Una vez terminada la fermentación (llegando a una acidez de 0.3 meq de ácido láctico) se coagula la leche agregando 1 mL de cuajo microbiano (CUAMEX México) por cada litro de leche, se agita vigorosamente y se deja actuar en un periodo comprendido entre 45 minutos y una hora.



### 3.4.4 TRATAMIENTO DE LA CUAJADA

#### 3.4.4.1 Cortado y desuerado

El objetivo del cortado es el desuerado de la cuajada

QUESO PANELA	QUESO MANCHEGO
<ul style="list-style-type: none"><li>• Se cortó en cuadros de 2.5 cm</li><li>• Se dejó reposar 5 min y se bate por 10 min lentamente.</li><li>• Se deja reposar otros 5 min y se bate nuevamente por 5 min</li><li>• Desuerar al ras de la cuajada</li><li>• Se realizó el salado agregando</li><li>• 6g de sal por cada litro de leche</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Se cortó en cuadros de 1 cm</li><li>• Se dejó reposar 5 min y se bate lentamente 10 min</li><li>• Se deja reposar otros 5 min y se bate nuevamente por 10 min</li></ul>

#### 3.4.4.2 Escaldado

*Este proceso no es realizado en el queso panela.*

*Queso manchego*

Ya teniendo el gel desuerado se agregó agua a una temperatura de entre 85 y 90°C y se agitó durante 20 minutos. Posteriormente se realizó un segundo cocimiento hasta que la pasta alcanzara una temperatura de 39°C.

### 3.4.5 PRENSADO

QUESO PANELA	QUESO MANCHEGO
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se colocó la cuajada salada en gasas</li> <li>• Se vació en un molde cilíndrico de hierro forjado</li> <li>• Se ejerció una presión equivalente a la mitad de la suma del peso del queso más el molde (la presión se ejerció mediante un frasco con agua hasta llegar al peso deseado)</li> <li>• Se realizaron volteos a los 30, 60 y 120 min. El prensado duró 24 horas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se colocó la cuajada en gasas</li> <li>• Se vació en un molde cilíndrico de hierro forjado</li> <li>• Se utilizó una prensa mecánica en la cual la presión ejercida se midió por medio del volumen de agua desplazada; dicha presión fue de 0.1428 kg/cm<sup>2</sup></li> <li>• Se realizaron volteos a los 30 min, a las 2 y 5 horas. El prensado duró 18 horas</li> <li>• Se colocó el queso en una salmuera al 10% durante 24 horas realizando volteos cada 6 horas</li> </ul>

### 3.4.6 MADURACIÓN

#### *Queso manchego*

La maduración se realizó a una temperatura de entre 18 - 21°C durante 12 días, durante los cuales se realizaban volteos periódicos del queso y se les agregó sorbato de potasio al 0.2% para evitar el crecimiento de hongos. Para

mantener la humedad relativa del medio se colocó agua en el molde de maduración para evitar la pérdida excesiva de este líquido.

Los cálculos realizados para el análisis de los quesos se presentan en el **APÉNDICE I.**

### **3.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA**

#### **3.5.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

##### **A. Fijación**

Se tomó una muestra de queso con un sacabocados, la cual se colocó en un frasco que contenía glutaraldehído (Electron Microscopy Science) al 2%, durante 24 horas a 4 °C (lo cual nos ayudó a endurecer las muestras para evitar barrer el tejido durante el corte). Pasado el tiempo se realizaron cortes de las tres diferentes secciones (centro, medio y corteza) en cubos de 3 x 3 x1 mm.

Se colocaron las muestras de queso en frascos viales y se les agregaron 2 ml de glutaraldehído (Electron Microscopy Science) al 2% + 5 ppm de rojo de rutenio durante 24 horas a 4 °C. El rojo de rutenio se agregó con la finalidad de teñir el exopolisacárido.

## **B. Lavado**

Una vez fijada las muestras con glutaraldehído (2%), se realizaron 3 lavados cada 10 min con buffer amortiguador de fosfatos + sacarosa 5 % al 0.02 M a pH =7.2.

## **C. Post-Fijación con osmio**

Posteriormente se colocaron las muestras en tetra óxido de Osmio (Electron Mycroscopy Science) al 1% para llevar acabo un proceso de post-fijación durante 2 horas a 4 °C.

## **D. Deshidratación**

Las muestras se colocaron en alcohol etílico a diferentes porcentaje (30 %, 50%, 70%, 80%, 90% y 100%). Realizando 3 lavados de 10 minutos con cada concentración, durante cada cambio.

## **E. Secado a punto crítico**

Se colocaron las muestras en cajas microporosas y se procedió a secar a punto crítico ( $P=1040 \text{ lb/in}^2$  , 31 °C) (Samdri-780-B, Sample Drying at the critical Point Tousimis Research corporation, Japan) usando dióxido de carbono como medio de transición.

## **F. Montaje**

Se colocaron las muestras en un portamuestras de aluminio con una cinta de carbono de doble vista. Se recubrió con oro en un Sputter Coater (Bal-Tec SCD 050, Suiza) con un espesor final de 150 Å.

### **3.5.2 OBSERVACIONES EN EL MICROSCOPIO DE BARRIDO DIFERENCIAL**

Se llevaron acabo observaciones en el microscopio de barrido diferencial (Zeiss JSM - 590 LV, Digital Scanning Electron Microscopy Alemania) con un haz de electrones 100% secundarios a 10 y 8 kv.

## Capítulo 4

### Resultados y Discusión

---

#### 4.1 FERMENTACIÓN DE LA LECHE

El proceso de fermentación de la leche para la elaboración de queso panela y manchego fue el mismo, debido a esto, los resultados obtenidos se explicarán en el mismo apartado.

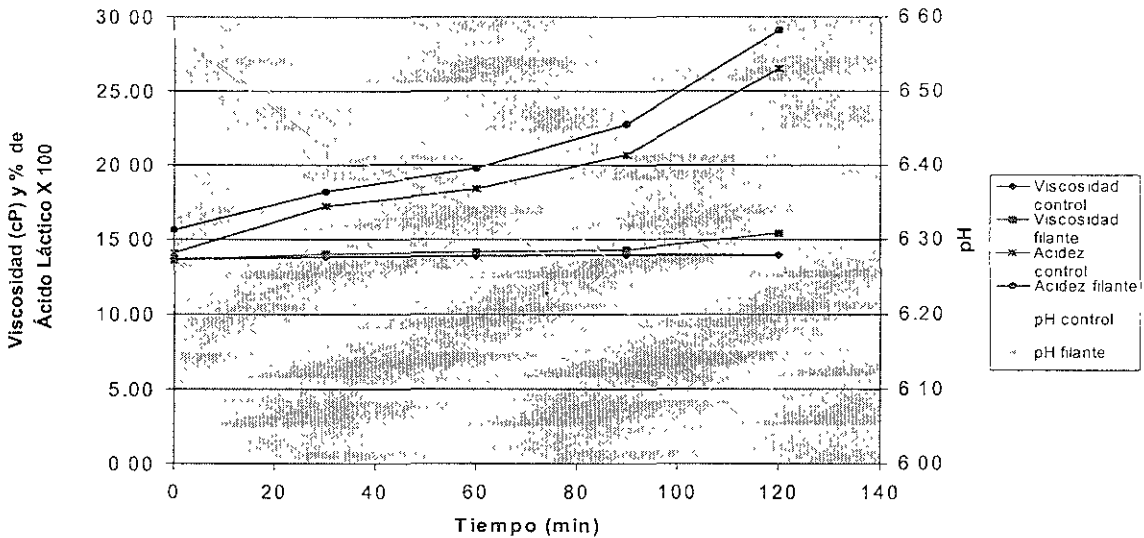
Durante el proceso de elaboración del queso existen diversos parámetros con los cuales se pueden controlar o vigilar los cambios biológicos, bioquímicos y físicos que tienen lugar en la fermentación de la leche. Lo anterior es posible mediante la medición del pH y la acidez (Scott, 1991).

El pH de la leche con la que se trabajó fue de aproximadamente 6.5. Este valor se encuentra dentro del rango normal que varía entre 6.2 y 6.8 (Riel, 1991). A lo largo del proceso se observó un descenso progresivo de pH a una velocidad uniforme, hasta llegar a un pH final alrededor de 6.0. El descenso del pH tiene por objeto, entre otras cosas, crear las condiciones óptimas para que las bacterias lácticas sintetizen sus propias enzimas proteolíticas (Ramet y col. 1990).

El aumento de acidez procede de la producción de ácido láctico como producto principal de la vía metabólica fermentativa de las bacterias lácticas adicionadas a la leche como cultivo iniciador (De Vuyst y Degeest, 1996).

Esta acidificación favorece no únicamente a la acción del cuajo y a la sinéresis de la cuajada sino que también inhibe el desarrollo de numerosas bacterias indeseables, entre las cuales se encuentran numerosos patógenos (Richard y col. 1990).

En la **Gráfica 1** se muestra el periodo de fermentación de la leche con un contenido de 12.5% de ST. Se ha reportado que en esta etapa, los microorganismos inoculados actúan en forma protocoperativa, esto es, que las llamadas cepas rápidas como *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris* (provistas de proteasas) liberan aminoácidos y péptidos al medio, lo que estimula el crecimiento de las cepas lentas como *Str. thermophilus*, caracterizadas por un escaso poder proteolítico y por su elevada producción de ácido láctico (Richard y col., 1991). Así pues, el pH desciende conforme van creciendo las bacterias, se produce ácido láctico y la acidez comienza a ascender.



**GRÁFICA 1. FERMENTACIÓN DE LA LECHE CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO PANELA AL 12.5% DE SÓLIDOS TOTALES (MEDICIONES REALIZADAS POR TRIPLICADO).**

En el caso del pH, podemos ver que ambas cepas empezaron con valores de 6.58, este valor fue disminuyendo conforme se llevó a cabo la fermentación, además, es importante destacar que con el uso de la cepa filante el pH tuvo una disminución más pronunciada durante todo este periodo lo cual se puede deber a que se tiene mayor concentración de *Str. thermophilus* cuya principal función es acidificar la leche al producir grandes cantidades de ácido láctico (Zourari y col. 1992). Se llegó a un pH final de 6.02 al utilizar la cepa control y 6.09 al utilizar la cepa filante.



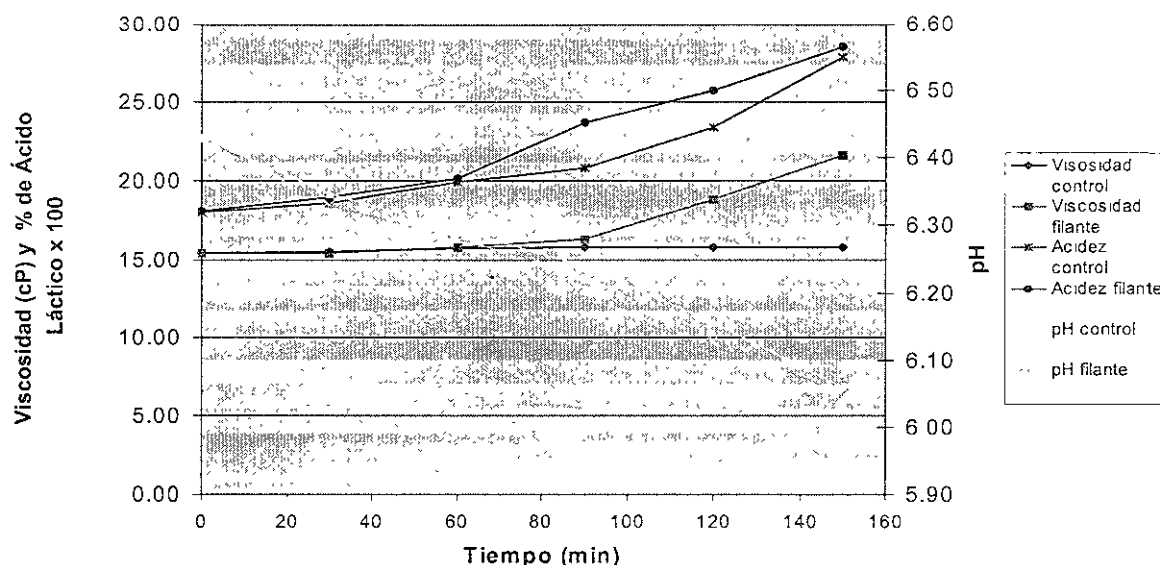
En la misma gráfica se demuestra un incremento proporcional en el porcentaje de ácido láctico con respecto al tiempo llegando a un valor final de 0.26% de ácido láctico para la cepa control y de 0.29% para la cepa filante.

En la **Gráfica 1**, también se muestra el comportamiento de la viscosidad aparente registrada durante la fermentación al utilizar ambas cepas.

Existen diferencias en los valores de viscosidad entre una cepa y otra, los cuales serán discutidos en otro apartado del presente trabajo. El tiempo de fermentación de la leche con 12.5% de sólidos totales fue de 120 minutos tanto para la cepa filante como para la cepa control.

En la **Gráfica 2** se observa la fermentación de la leche con 17% de sólidos totales para la elaboración del queso panela. Se observa que en ambos casos (cepa control y cepa filante) el pH empieza en 6.43 y desciende hasta llegar a valores de 6.05 para la cepa control y 6.06 para la cepa filante.

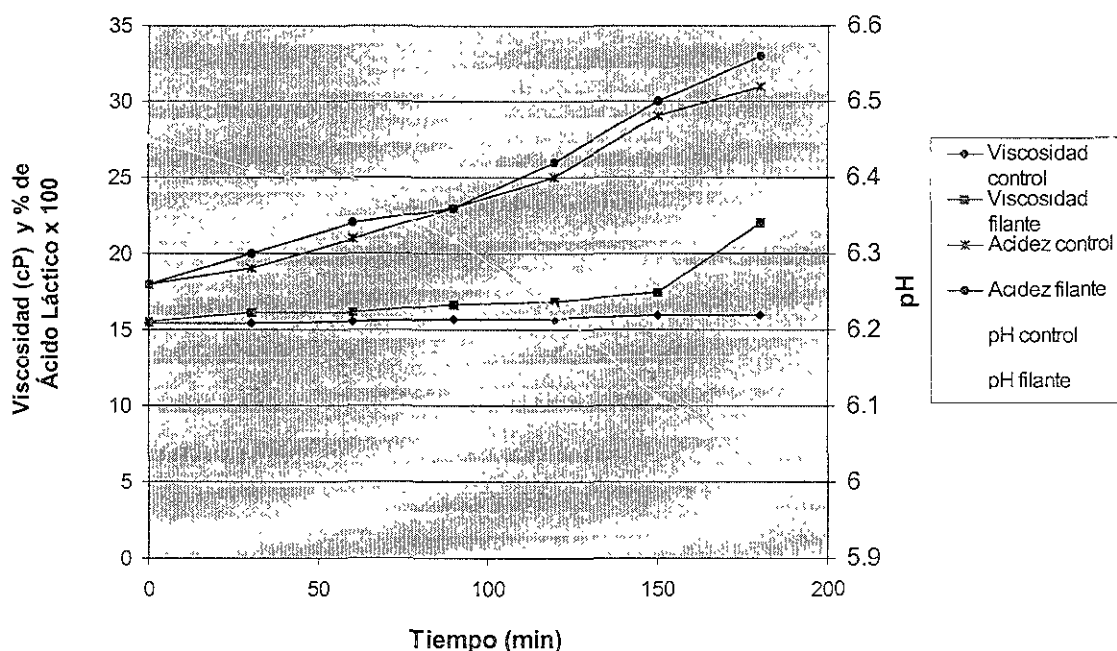
La fermentación inició con una acidez de 0.18% y finalizó con valores de 0.27% y 0.29% para la cepa control y filante respectivamente, valores muy similares a los obtenidos en la fermentación de la leche con 12.5% de sólidos totales. En la Gráfica 2 se observa también que hubo un incremento en los tiempos de fermentación al utilizar mayor cantidad de sólidos totales.



**GRÁFICA 2. FERMENTACIÓN DE LA LECHE CON CEPAS CONTROL Y CEPAS FILANTES PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO PANELA AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES (MEDICIONES REALIZADAS POR TRIPLICADO).**

La **Gráfica 3** muestra el periodo de fermentación de leche Boreal con 17% de ST para la elaboración del queso manchego. En este caso el pH inicial fue de 6.51 y 6.45 para la leche inoculada con cepa filante y control respectivamente. Esta diferencia, se debe a que la leche utilizada no procedía del mismo lote. Se llegó a valores de pH finales de 6.01 y 6.05 al utilizar cepa filante y cepa control.

El porcentaje de acidez registrado para la cepa control fue de 0.17% mientras que para la filante fue de 0.18%; al final del proceso se obtuvo 0.33% y 0.31% para la cepa filante y control.



**GRÁFICA 3. FERMENTACIÓN DE LA LECHE CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO MANCHEGO AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES (MEDICIONES REALIZADAS POR TRIPLICADO).**

El tiempo de fermentación fue de 180 minutos para ambas cepas. La diferencia obtenida en el tiempo de fermentación para la leche destinada a la elaboración del queso con mayor contenido de sólidos totales (17%) puede deberse a la presencia de un grupo amortiguador ( $\text{PO}_4^{2-}$ ) agregado de manera intencional a la leche para evitar su acidificación.

## **4.2 VISCOSIDAD APARENTE**

La producción de EPS por cultivos lácticos en leches fermentadas se ha medido a través de observaciones visuales o mediciones de viscosidad (Rawson y Marshall, 1997; Hess y col. 1997). Aunque las mediciones de viscosidad utilizadas como indicativo de la producción de EPS en medio líquido son difíciles de interpretar, actualmente son el único método fácil y rápido disponible para evaluar la presencia del exopolisacárido. Se han desarrollado métodos más precisos para medir su producción, los cuales se basan en su aislamiento por precipitación con etanol (Cerning, 1995; García-Garibay y Marshall, 1991); sin embargo, la mayoría son muy largos y complicados y no permiten monitorear en forma oportuna la evolución de la producción del polímero.

Como se observa en la tabla 8 la viscosidad tuvo un incremento no significativo cuando se utilizó el cultivo control ya que en nuestro trabajo la viscosidad final registrada al utilizar dicha cepa no aumentó más de una unidad; dicho comportamiento se debe a que conforme el pH disminuye se produce una desorganización micelar que aumenta conforme se alcanza el punto isoeléctrico de la micela (Bruler y Lenoir, 1990).

Cabe mencionar que las fermentaciones realizadas se detuvieron al llegar a un pH de 6.0 debido a que a valores menores de este pH es difícil obtener un coágulo adecuado; sin embargo, sí se registró un ligero aumento en la viscosidad aparente en el que puede deberse a una modificación en la organización micelar.

**TABLA 8. VALORES DE VISCOSIDAD APARENTE REGISTRADOS DURANTE LA FERMENTACIÓN DE LA LECHE ( MEDICIONES REALIZADAS POR TRIPLICADO).**

Tiempo (min)	QUESO PANELA 12.5% DE SÓLIDOS TOTALES		QUESO PANELA 17% DE SÓLIDOS TOTALES		QUESO MANCHEGO 17% DE SÓLIDOS TOTALES	
	Control	Filante	Control	Filante	Control	Filante
	$\mu$ (cP)	$\mu$ (cP)	$\mu$ (cP)	$\mu$ (cP)	$\mu$ (cP)	$\mu$ (cP)
0	13.67	13.60	15.40	15.40	15.40	15.53
30	13.80	14.00	15.47	15.40	15.40	16.13
60	13.86	14.20	15.73	15.80	15.50	16.13
90	13.93	14.33	15.80	16.27	15.70	16.67
120	13.93	15.20	15.80	18.80	15.70	16.80
150			15.80	21.60	16.0	17.53
180					16.0	21.80

La viscosidad aparente final al utilizar la cepa filante fue significativamente mayor que la registrada con la cepa control. Lo anterior se relaciona con lo publicado por Wachter-Rodarte y col. (1993), en donde se relaciona indirectamente la viscosidad con la producción de exopolisacárido. Sin embargo, no solamente la presencia del exopolisacárido incrementa de manera directa el valor de viscosidad; existen ciertos parámetros que pueden variar su magnitud, algunos de ellos son: el tipo de cultivo, condiciones de incubación, contenido de sólidos totales, la forma en que se mide y la estructura del mismo. Zourari y col. (1991), hace referencia a que los cambios en la configuración tridimensional del

polímero y sus interacciones con algunos compuestos de la leche, principalmente las caseínas también influyen en la relación que existe entre la cantidad de polisacárido producido y la viscosidad correspondiente.

La compleja relación entre la viscosidad y la producción de exopolisacárido ha sido descrita anteriormente (Schellhaass y Morris, 1985; Teggatz y Morris, 1990) y se ha llegado a la conclusión de que el exopolisacárido interactúa con las caseínas lo cual da como resultado un incremento en la viscosidad (Cerning, 1995; De Vuyst y Degeest, 1999 ).

Tomando en cuenta dichos puntos, se decidió hacer la medición de viscosidad aparente como método indicativo de la presencia de exopolisacárido ya que el interés principal en este trabajo era determinar su presencia, no su cuantificación.

Como se observa en las gráficas 2 y 3, cuando se utilizó la cepa filante y mayor contenido de sólidos totales, se registró una viscosidad final mayor (aproximadamente 5 unidades más) en comparación con la leche con 12.5% de ST, lo que coincide con lo publicado por Wachter-Rodarte y col. (1993) en donde se reporta que existe un efecto sinérgico en la viscosidad aparente entre la caseína y el polisacárido. Un aumento en la concentración de caseína conlleva a una mayor interacción entre las micelas y el polímero obteniéndose valores más altos en la viscosidad aparente, aunque la producción de polisacárido no es mayor.

Sin embargo, en otros estudios (Cerning y col. 1990, García-Garibay y Marshall, 1990) se ha visto que al aumentar la cantidad de caseína presente en el medio, aumenta la viscosidad y la producción de polisacárido pero esto depende del tipo de cepa utilizada así como de las asociaciones entre cepas filantes y no filantes.

Estudios de microscopía electrónica realizados en este proyecto demostraron la presencia del exopolisacárido en los quesos elaborados con la cepa filante, y cuya forma es de filamentos que unen a las estructuras del queso, lo cual no se observa en las microscopías realizadas en el queso control (fig.6).

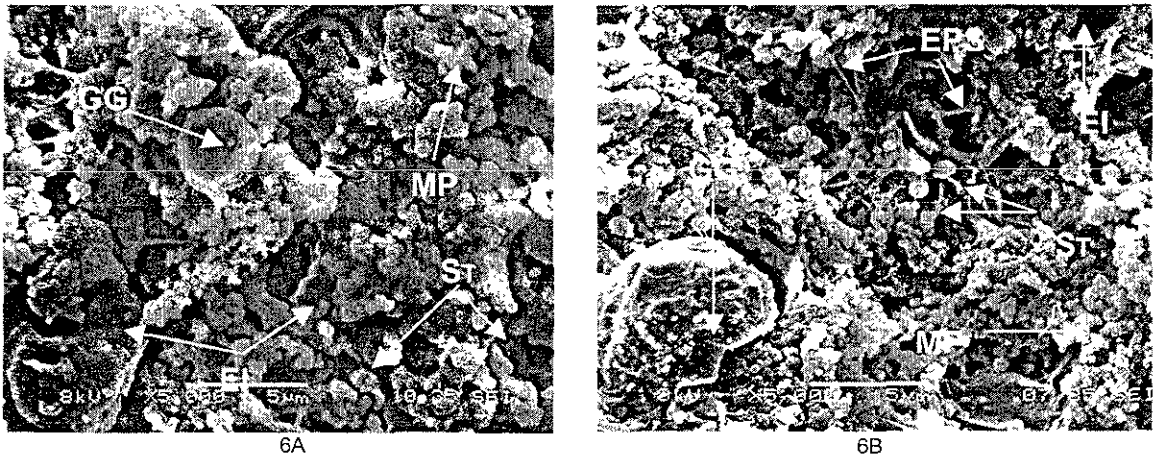
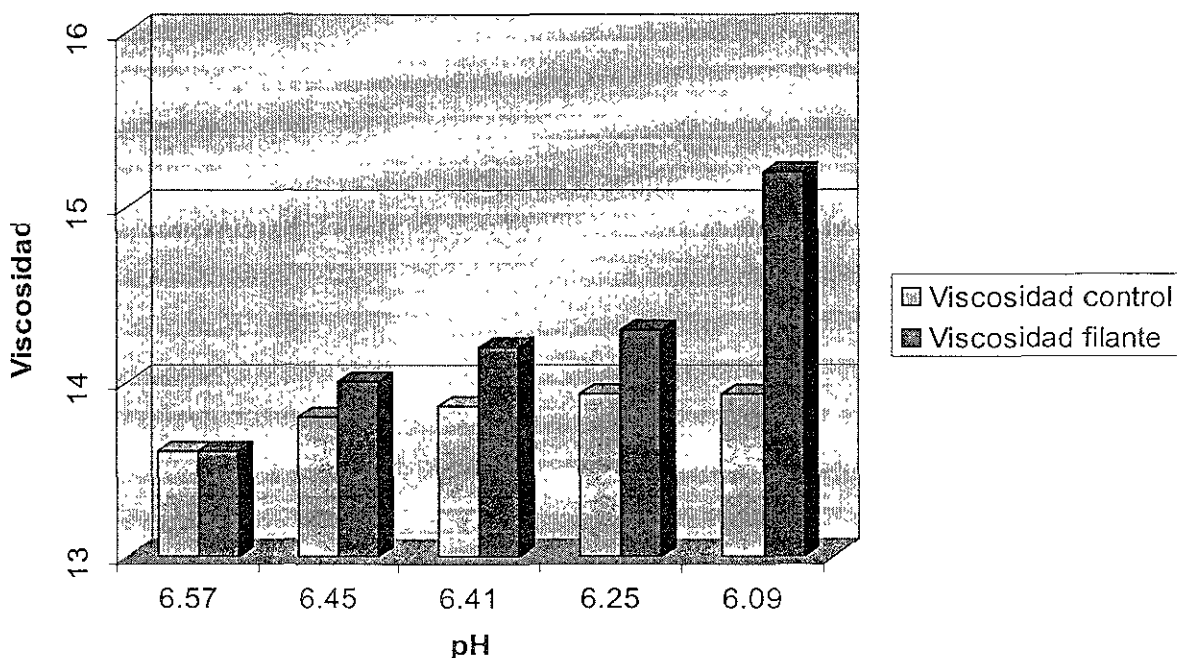


FIGURA 6 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DEL QUESO PANELA CONTROL (6A) Y FILANTE (6B)(MP= MATRIZ PROTEICA, ST= STREPTOCOCCUS, GG= GLÓBULO GRASA, EPS= EXOPOLISACÁRIDO, EI= ESPACIOS INTERSTICIALES)

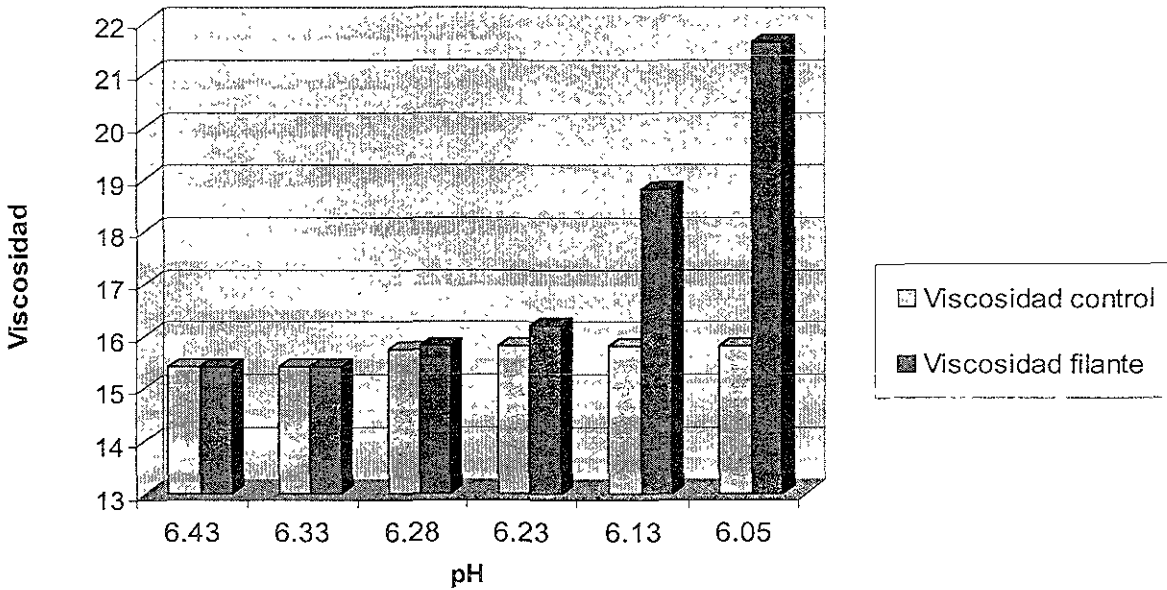
#### 4.2.1 RELACIÓN ENTRE LA PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDO Y EL PH DEL MEDIO

Como se observa en las gráficas 4, 5 y 6 el aumento en la viscosidad aparente durante la fermentación comenzó a un pH alrededor de 6.2, siendo su máxima producción a pH cercanos a 6.0, según Cerning y col. (1990) las condiciones de pH óptimo para la producción de exopolisacárido son cercanas al valor de 6.0. Van den Berg y col. (1995) postuló que la conversión de azúcar a exopolisacárido es más eficiente a un pH cercano a 5.8. Además del pH, la temperatura también es un factor importante para su producción. Gassem y col. (1995), De Vuyst y Degeest, (1999), Kojic y col. (1992) aseguran que al realizar la fermentación a una temperatura menor a la óptima de crecimiento del microorganismo filante, la producción de exopolisacárido es mayor, por ello, la fermentación se realizó a 37°C, siendo la temperatura óptima de crecimiento de *St. thermophilus* 42 – 45°C.

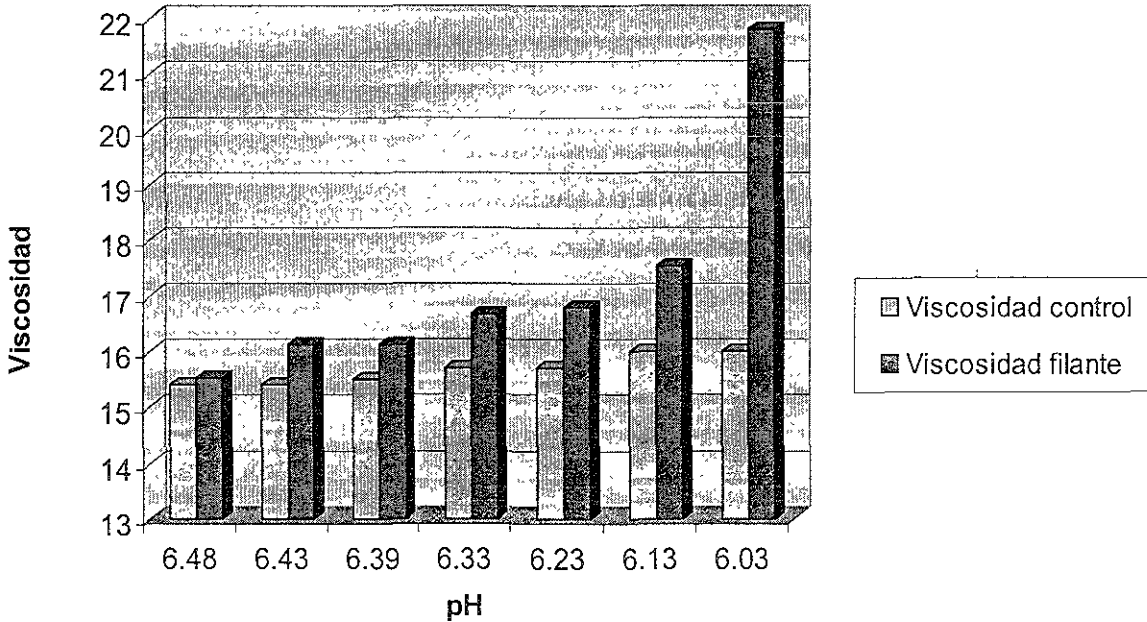


GRÁFICA 4. AUMENTO DE VISCOSIDAD EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA LECHE CON CEPAS CONTROL Y CEPAS FILANTES PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO PANELA AL 12.5% DE SÓLIDOS TOTALES (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPPLICADO. ANOVA:  $\alpha = 0.0075$ )





**GRÁFICA 5. AUMENTO DE VISCOSIDAD EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA LECHE CON CONTROL Y CEPA FILANTE PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO PANELA AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPLICADO. ANOVA :  $\alpha=0.0075$ )**



**GRÁFICA 6. AUMENTO DE VISCOSIDAD EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA LECHE CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO MANCHEGO AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPLICADO. ANOVA:  $\alpha=0.0001$ )**

### 4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS EN LOS QUESOS

#### 4.3.1 QUESO TIPO PANELA

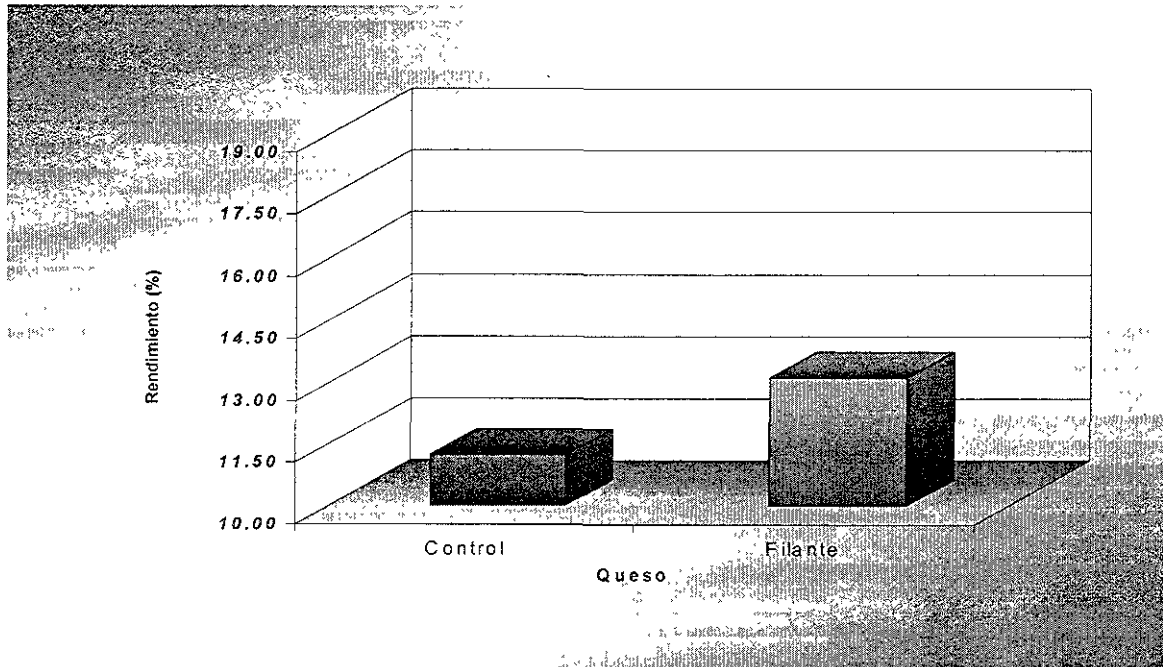
Uno de los parámetros utilizados para evaluar la influencia del exopolisacárido en los quesos realizados fue el rendimiento (tabla 9) determinado al día siguiente de su elaboración.

**TABLA 9. PORCENTAJE DE RENDIMIENTOS DE LOS QUESOS PANELA REGISTRADOS AL DÍA SIGUIENTE DE SU ELABORACIÓN.**

<b>% DE SÓLIDOS TOTALES</b>	<b>QUESO CONTROL</b>	<b>QUESO FILANTE</b>
12.5	11.23±0.58	13.12±0.91
17	16.16±0.83	18.37±0.76

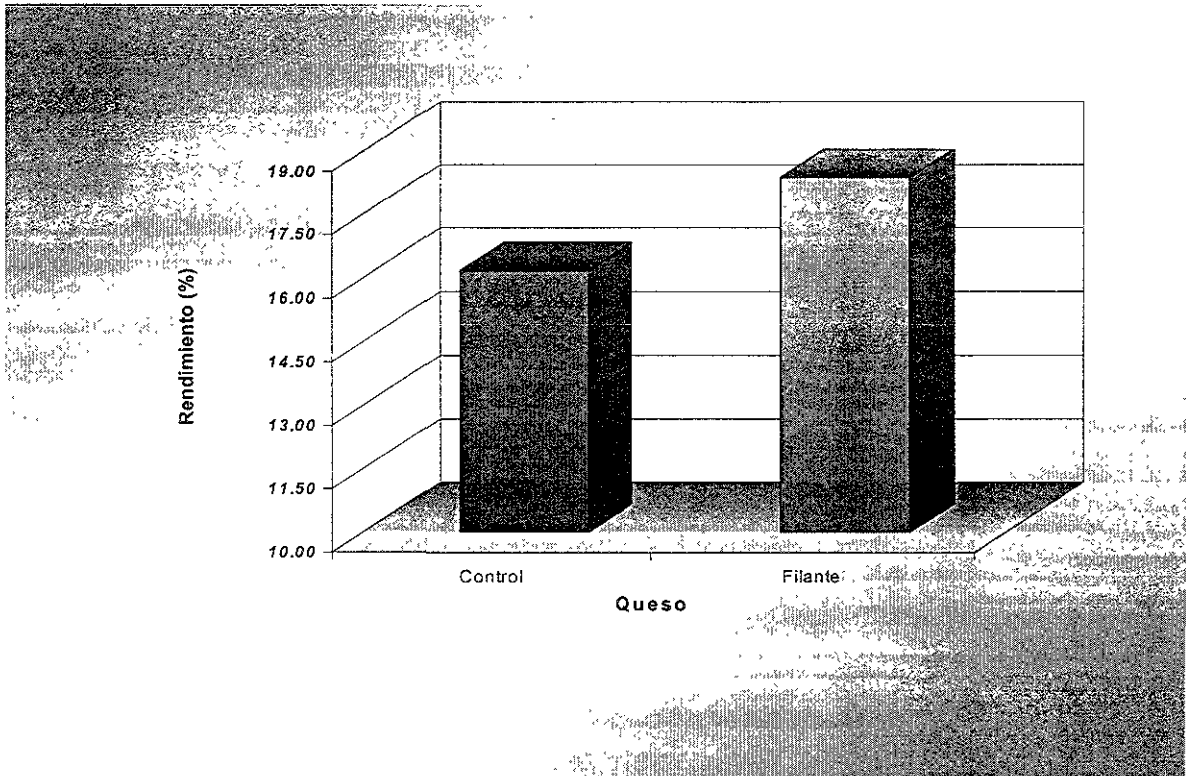
Nota: ± correspondiente a Desviación Estándar.

Así también, se observó que el queso con la cepa filante tiene un aumento significativo ( $\alpha=0.0325$ ) de aproximadamente el 17% más de rendimiento que el control en el queso panela con 12.5% de sólidos totales (Gráfica 7).



**GRÁFICA 7. COMPARACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO REGISTRADO CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE EN EL QUESO PANELA AL 12.5% DE SÓLIDOS TOTALES, UN DÍA DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPLICADO. ANOVA  $\alpha= 0.0325$ ).**

El queso panela con 17% de sólidos totales registró un aumento significativo ( $\alpha=0.0328$ ) del 14% aproximadamente en el rendimiento al utilizar la cepa filante con respecto al control (Gráfica 8).



**GRÁFICA 8. COMPARACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO REGISTRADO CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE EN EL QUESO PANELA AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES, UN DÍA DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPLICADO. ANOVA  $\alpha = 0.0328$ ).**

Un incremento en el rendimiento (sin modificación en su extracto seco) es un reflejo directo de un aumento en el contenido de humedad en el queso (Scott, 1991). Como se observa en la Tabla 10 existe un incremento en la humedad registrada cuando se utilizó la cepa filante. Al realizar el análisis estadístico se obtuvo una diferencia significativa ( $\alpha = 0.0001$ ) tanto para el queso con 12.5% de ST como para el de 17% de ST.

TABLA 10. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL QUESO PANELA

	QUESO PANELA 12.5% ST		QUESO PANELA 17% ST	
	Control %	Filante %	Control %	Filante %
Humedad	52.75 ± 1.17	56.86 ± 1.92	60.07 ± 1.13	63.90 ± 1.17
Sólidos Totales	47.25 ± 1.21	43.14 ± 1.92	39.93 ± 1.35	36.10 ± 1.17
Grasa	23.58 ± 1.27	23.23 ± 3.18	13.50 ± 0.50	14.67 ± 2.25
Grasa retenida	75.51 ± 4.08	86.80 ± 1.41	70.48 ± 1.85	86.39 ± 4.91
Sólidos no grasos	23.67 ± 2.10	19.19 ± 1.14	26.43 ± 1.25	21.43 ± 1.30
Grasa en base seca	49.84 ± 4.08	48.56 ± 4.27	35.29 ± 1.34	42.93 ± 2.00
*SNG en base seca	50.16 ± 4.08	51.44 ± 4.27	64.71 ± 1.34	57.07 ± 2.00

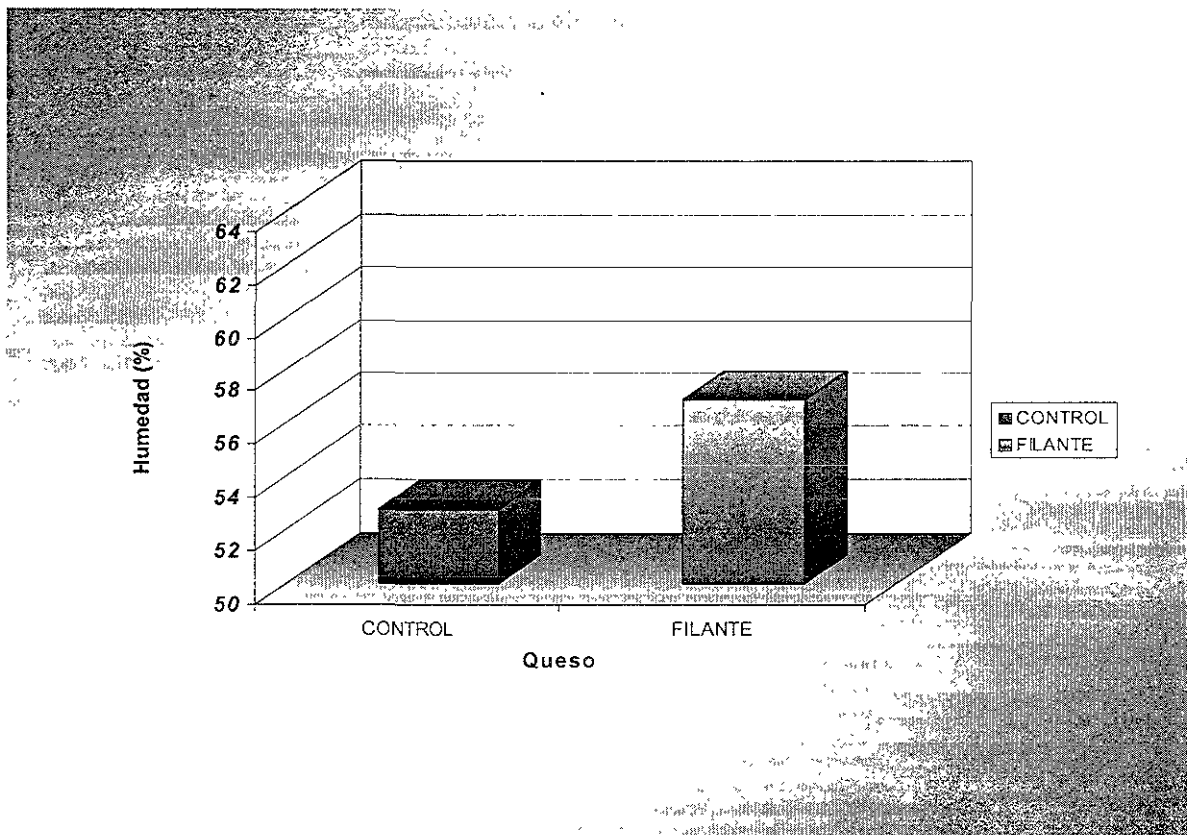
\*SNG: Sólidos no grasos.

Nota: ± correspondiente a Desviación Estándar

En la gráfica 9 se puede ver también la diferencia registrada en la humedad entre el queso control y el filante. El aumento en la humedad para el queso panela con 12.5% fue de 6.74%. La retención de agua se debe a que el exopolisacárido producido por las bacterias filantes tiene la capacidad de unir las proteínas de la leche, especialmente las caseínas formando una matriz con mejor capacidad de retención de agua (Schellhass y Morris, 1985; García-Garibay y Marshall, 1991; Watcher-Rodarte y col. 1993). Estas interacciones entre el exopolisacárido y los componentes de la leche provocan aumentos en el rendimiento del queso debido a que se retiene mayor cantidad de agua (Low y col. 1988; De Vuyst y Degeest, 1999).

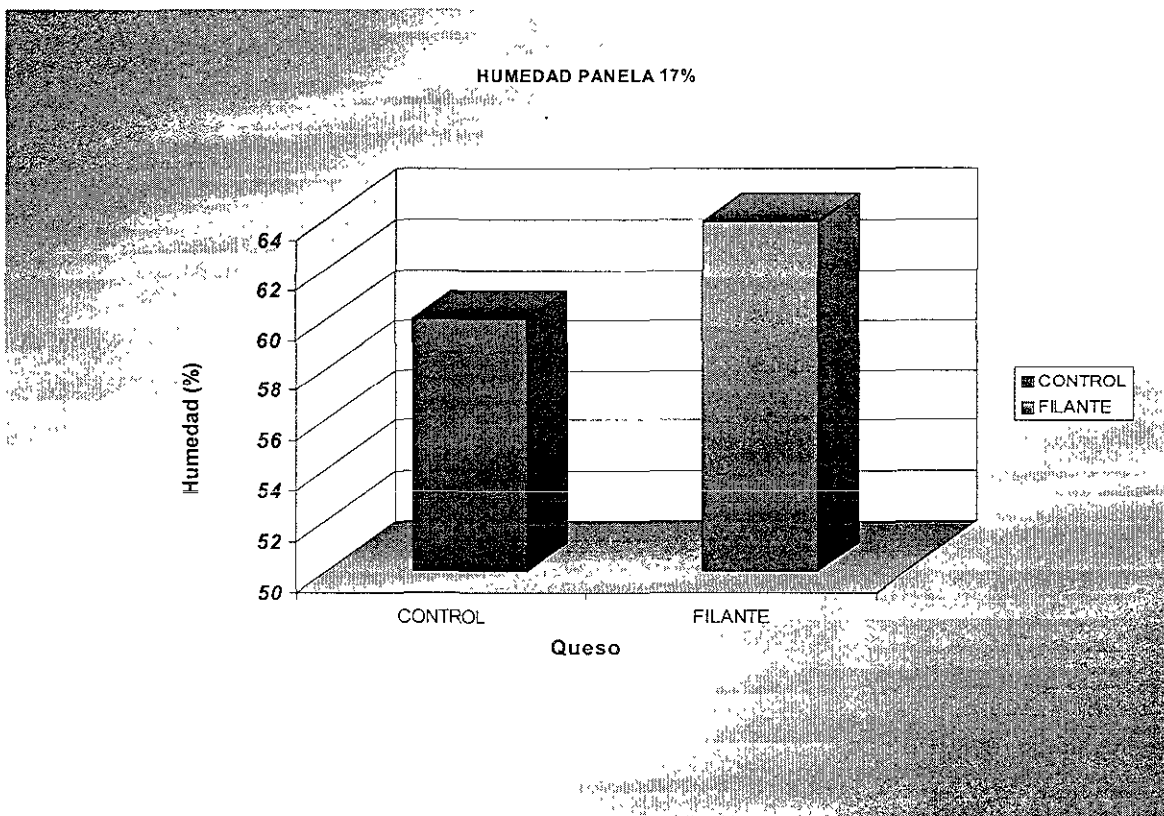
El aumento en la humedad que se obtuvo fue mayor que lo publicado por Perry y col., (1997), quienes registran un aumento de 3% en la humedad de queso Mozzarella bajo en grasa al utilizarse un cultivo productor de polisacárido.

El haber obtenido valores más altos en la humedad del queso panela en comparación con lo reportado por Perry y col. (1997) se debe a que los procesos de elaboración son distintos; en el queso Mozarella se lleva a cabo un escaldado, con lo cual hay mayor expulsión de suero, lo que no sucede con el queso panela ya que el escaldado no se efectúa.



**GRÁFICA 9. COMPARACIÓN ENTRE LA HUMEDAD REGISTRADA CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE EN EL QUESO PANELA AL 12.5% DE SÓLIDOS TOTALES, UN DÍA DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPLICADO. ANOVA  $\alpha= 0.0001$ ).**

En el queso panela con 17% de sólidos totales el aumento en la humedad fue de 6.06% cuando se utilizó la cepa filante (Gráfica 10). Con estos resultados se reafirma la teoría explicada en el párrafo anterior acerca de la influencia del exopolisacárido y la matriz proteica.



**GRÁFICA 10. COMPARACIÓN ENTRE LA HUMEDAD REGISTRADA CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE EN EL QUESO PANELA AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES, UN DÍA DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPPLICADO. ANOVA  $\alpha=0.0001$ ).**

El comparar la diferencia de humedad entre la cepa control y filante en el queso con 17% de sólidos totales se ve que no es significativamente mayor que la diferencia de humedad entre la cepa control y filante en el queso con 12.5% de sólidos totales.

Otro parámetro fisicoquímico que se midió fue la grasa retenida, ésta fue significativamente mayor ( $\alpha= 0.001$ ) en los quesos en que se utilizó la cepa productora de exopolisacárido (con 12.5 y 17% de sólidos totales). Lo anterior sugiere que la presencia del exopolímero al unirse con las caseínas y formar la red tridimensional ayuda a que los glóbulos de grasa queden atrapados en la matriz proteica evitando así la salida de éstos.

La grasa retenida por el queso con 17% de sólidos totales es mayor que el de 12.5% de sólidos. Esto se puede explicar por dos factores, el primero se enfoca en la estructura del queso: la caseína forma una red proteica que atrapa a los glóbulos de grasa, por lo tanto es necesario que exista suficiente proteína presente para formar una red que de las características sólidas al queso.

Si aumentamos la cantidad de caseína, dicha red se fortalece y en consecuencia hay una mayor interacción entre la proteína y la grasa (Prentice, 1992). El segundo factor se refiere a la presencia del exopolisacárido producido por la bacteria filante que como ya se explicó interactúa con la matriz proteica y al haber mayor concentración de caseínas hay mayor interacción resultando más grasa retenida en la red.



4.3.2 QUESO TIPO MANCHEGO CON 17% DE SÓLIDOS TOTALES

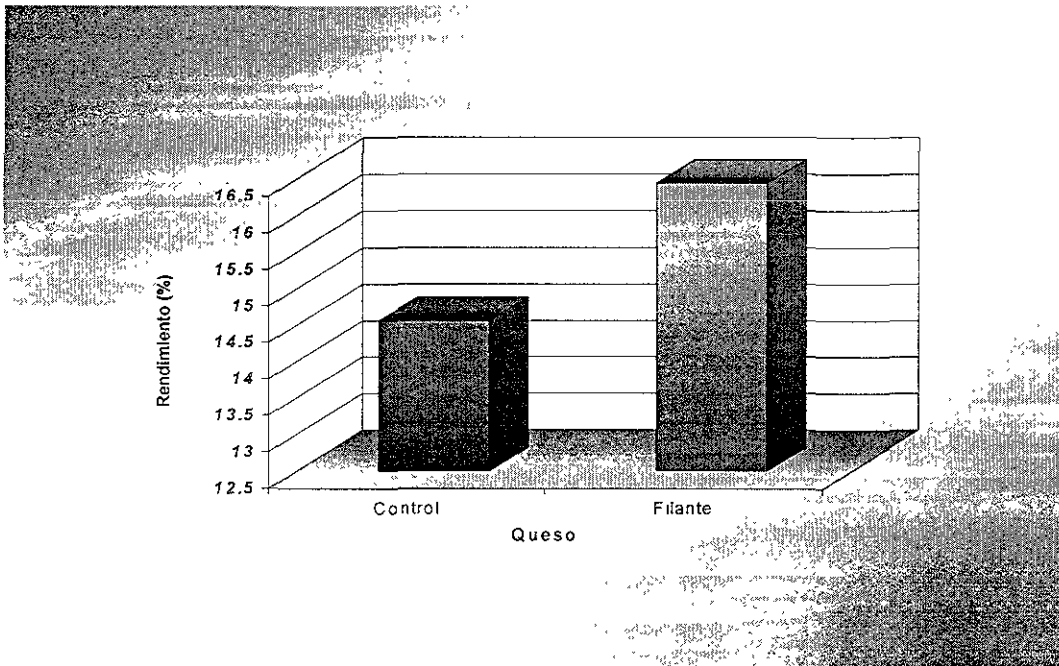
Para evaluar el efecto del exopolisacárido en este queso se determinó el rendimiento (Tabla 11).

TABLA 11. PORCENTAJE DE RENDIMIENTOS DE LOS QUESOS MANCHEGO REGISTRADOS A LOS 7 Y 12 DÍAS DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN

DÍAS	QUESO CONTROL	QUESO FILANTE
7	14.56 ± 0.29	16.44 ± 0.13
12	13.51 ± 0.48	15.15 ± 0.30

Nota: ± correspondiente a Desviación Estándar.

Se obtuvo un valor significativamente mayor en los quesos con cepa filante ( $\alpha=0.0011$ ) al registrado (Gráfica 11) en los quesos realizados con la cepa productora del exopolisacárido a los 7 días de maduración.

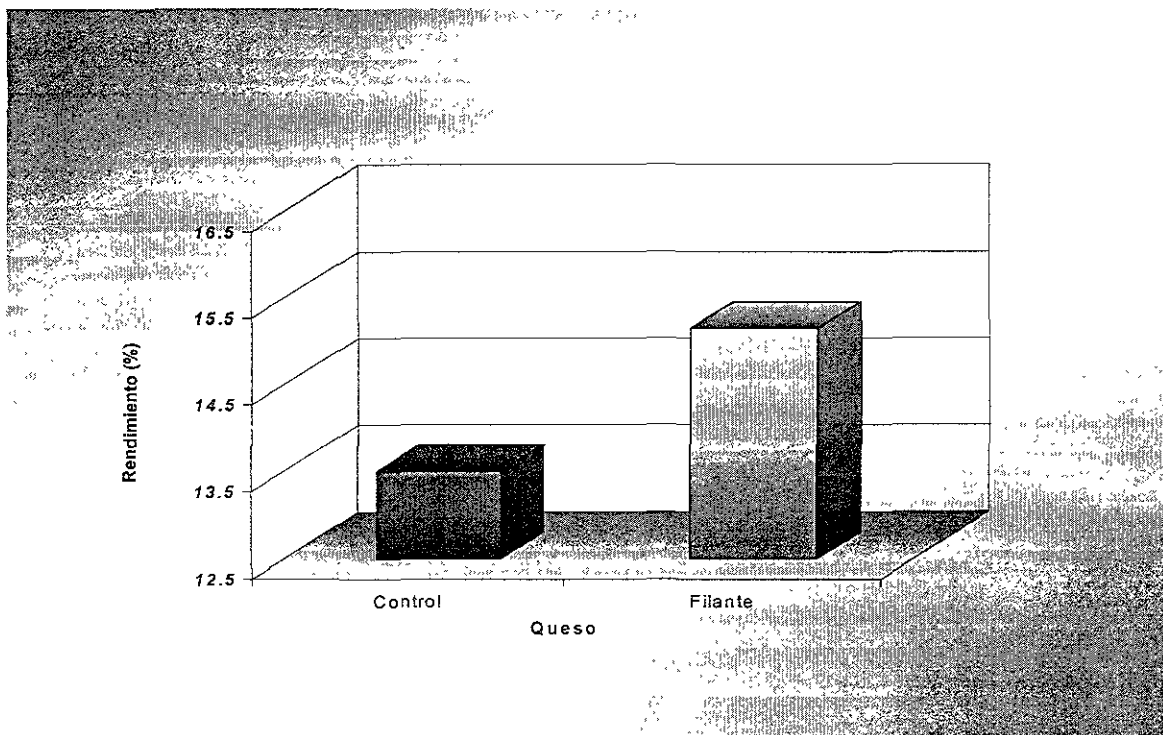


GRÁFICA 11. COMPARACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO REGISTRADO CON CEPAS CONTROL Y CEPAS FILANTE EN EL QUESO MANCHEGO AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES. SIETE DÍAS DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPLICADO, ANOVA  $\alpha= 0.0011$ ).

A los 12 días de maduración (Gráfica 13), también se encontró un aumento significativo en el rendimiento ( $\alpha=0.0011$ ), cuando se utilizó la cepa filante.

En el trabajo realizado por Flores (2001) se encontró también diferencia significativa en el rendimiento a los 7 días de maduración cuando se utilizó cepa filante. Sin embargo, a los 12 días de maduración no hubo diferencia significativa en el rendimiento ya que durante el proceso de maduración hubo una pérdida de agua excesiva debido a que no se tenía un control de la humedad relativa del ambiente de maduración y como resultado se le formó una costra gruesa que en nuestro caso no se observó.

Además, como se explicó en párrafos anteriores es posible que podría deberse también al aumento de sólidos totales en el queso manchego.



**GRÁFICA 12. COMPARACIÓN ENTRE EL RENDIMIENTO REGISTRADO CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE EN EL QUESO MANCHEGO AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES .DOCE DÍAS DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPPLICADO. ANOVA  $\alpha= 0011$ ).**

Durante el proceso de maduración la humedad se va perdiendo de manera paulatina tratando de equilibrarse con la humedad relativa del ambiente. Así pues, en este trabajo se dejó madurar el queso manchego durante 12 días en total, dentro de los cuales se midió la humedad a los 7 y a los 12 días con el fin de recabar información sobre el comportamiento en lo referente a la pérdida de agua por el paso del tiempo, así como las diferencias que pudieran existir debido a la utilización de la cepa filante (Tabla 12.)

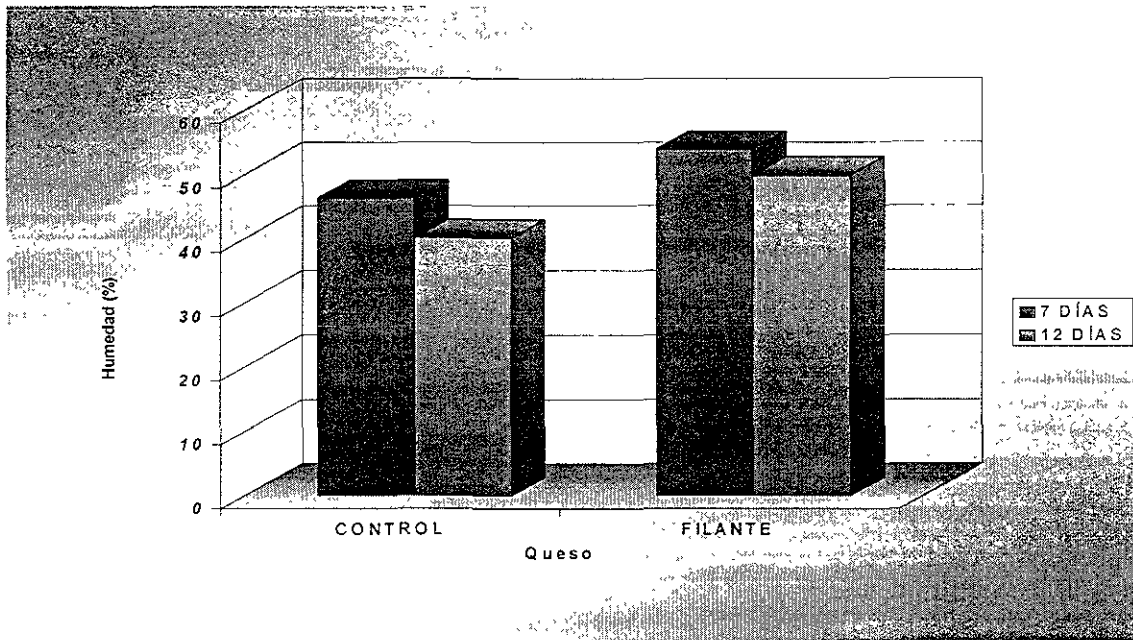
**TABLA 12. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL QUESO MANCHEGO CON 17% DE ST**

	7 DÍAS		12 DÍAS	
	Control %	Filante %	Control %	Filante %
Humedad	46.35 ± 0.28	53.95 ± 1.57	40.09 ± 1.14	49.85 ± 1.07
Sólidos Totales	53.65 ± 0.77	46.08 ± 1.57	59.91 ± 1.30	50.15 ± 1.07
Grasa	18.33 ± 0.57	20.67 ± 0.57	19.83 ± 0.76	23.67 ± 0.57
Grasa retenida	87.51 ± 3.45	92.07 ± 0.93	89.96 ± 3.11	95.33 ± 0.57
Sólidos no grasos	35.32 ± 0.45	25.42 ± 1.64	39.07 ± 0.86	26.49 ± 1.22
Grasa en base seca	34.17 ± 0.57	44.89 ± 1.86	34.78 ± 0.35	47.21 ± 1.48
*SNG en base seca	65.83 ± 0.57	55.11 ± 1.86	65.22 ± 0.60	2.79 ± 1.48

\*SNG: sólidos no grasos.

Nota: ± correspondiente a Desviación Estándar.

Como se observa en la Gráfica 13, con la utilización de la cepa filante se registró un aumento en la humedad de 16.39% a los 7 días y a los 12 días de 24%.



**GRÁFICA 13. COMPARACIÓN ENTRE LA HUMEDAD REGISTRADA CON CEPA CONTROL Y CEPA FILANTE EN EL QUESO MANCHEGO AL 17% DE SÓLIDOS TOTALES. SIETE Y DOCE DÍAS DESPUÉS DE SU ELABORACIÓN (MEDICIÓN REALIZADA POR TRIPPLICADO. ANOVA  $\alpha = 0.00001$ ).**

Existió un aumento significativo ( $\alpha = 0.0001$ ) en la humedad registrada cuando se utilizó la cepa filante, tanto a los 7 días como a los 12 días. Este comportamiento nos confirma una vez más que el biopolímero retiene agua dentro de la matriz del queso ya que se forma una red tridimensional más compacta; es decir las uniones existentes entre las micelas de caseína son mayores lo que da como resultado un aumento en el agua retenida. Estudios previos (Flores, 2001) con este mismo tipo de queso, pero con menor contenido en sólidos totales (12.5%) muestran también que se retiene mayor contenido de agua (9% aproximadamente) con la cepa filante.

En adición a esto, el aumento en la cantidad de sólidos se traduce en un aumento en el contenido de caseína que fortalece más las interacciones entre las cadenas de caseína y el polímero con lo cual el agua ligada que se pierde es menor que en el queso manchego con 12.5% de ST.

Sin embargo, la diferencia de humedad registrada a los 7 días de maduración entre el queso manchego control y filante fue menor que a los 12 días de maduración, lo cual se debe a que hay más pérdida de humedad porque hay mayor contenido de agua y por lo tanto mayor  $A_w$ .

Con respecto a la grasa retenida en el queso manchego, se observa (tabla 12) que en ambos casos (7 y 12 días) aumenta de forma significativamente ( $\alpha=0.001$ ) al haber utilizado la cepa filante. Dicho aumento fue de 5% aproximadamente, lo que concuerda con los resultados de Flores (2001), en donde se registró también un aumento en el contenido de grasa al utilizar la cepa filante en la elaboración de queso manchego con 12.5% de ST. Este fenómeno también se debe al incremento en las interacciones entre el polímero y la matriz proteica, dando lugar a una red más compacta y con mayores uniones internas con lo cual, la grasa queda atrapada y por lo tanto se retiene mayor cantidad.

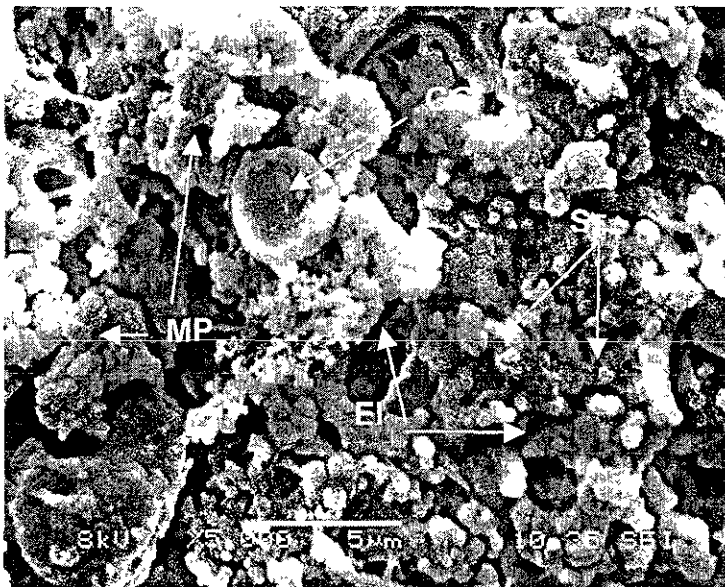
Si comparamos la grasa retenida en los quesos panela con la grasa retenida en el queso manchego, podemos observar que hay un aumento importante en la cantidad de grasa retenida en éste último, lo cual puede deberse al siguiente fenómeno:

después del corte la cuajada es blanda y el recubrimiento superficial de las partículas que la constituyen posee una estructura abierta; el escaldado, o la cocción de la cuajada provoca la contracción de la matriz proteica (Scott, 1991).

Así pues, en el caso del queso panela, éste tiene una estructura abierta y por lo tanto se da lugar una expulsión de suero mayor, lo cual provoca pérdidas de grasa, en cambio, en el queso manchego la contracción de la matriz proteica hace que se haga un red más cerrada (Scott, 1991).

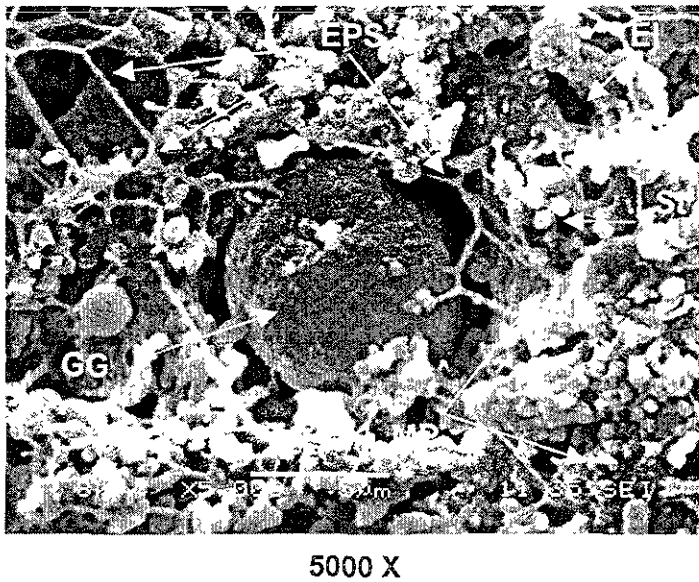
#### 4.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Para confirmar la presencia del exopolisacárido y explicar los cambios en la microestructura y fisicoquímicos registrados en los quesos panela, se realizaron estudios de microscopía electrónica de barrido en donde se observa claramente la diferencia entre el queso control y filante, ya que en este último el polisacárido está presente (figuras 7 y 8).



5000 X

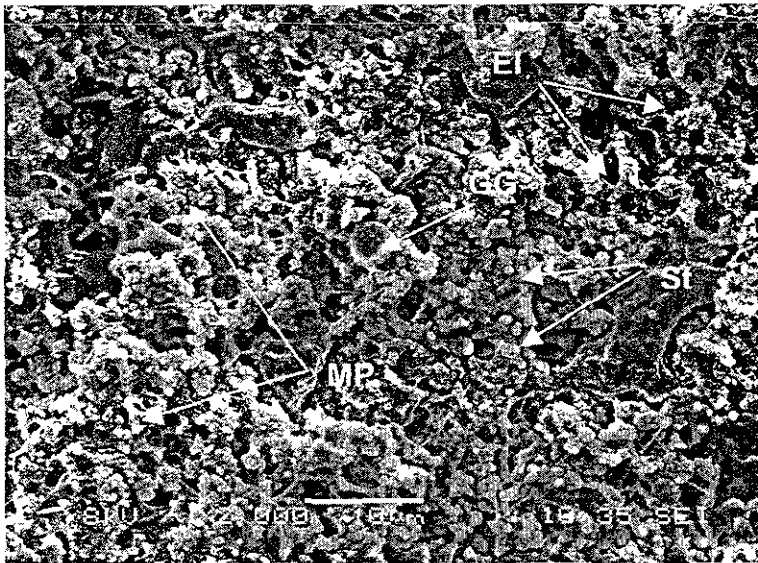
FIGURA 7 . MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 12.5% DE ST CON CEPA CONTROL. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = STREPTOCOCCUS)



**FIGURA 8 . MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 12.5% DE ST CON CEPA FILANTE. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = STREPTOCOCCUS , EPS = EXOPOLISACÁRIDO)**

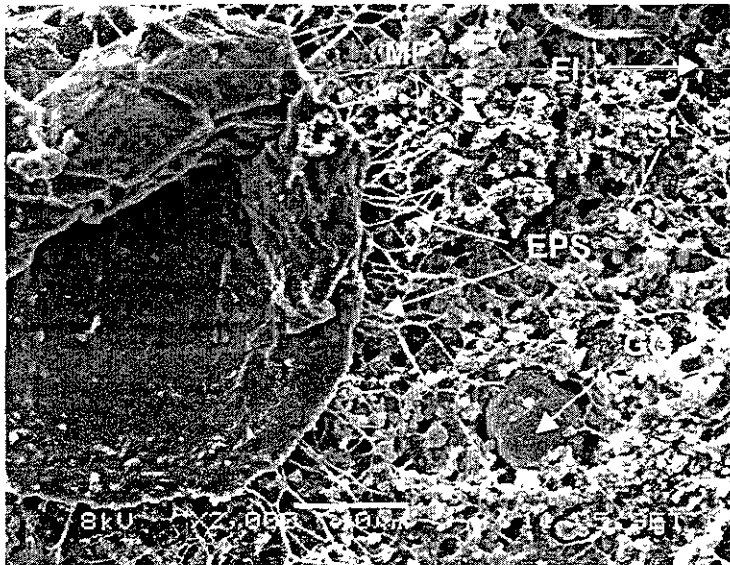
En la micrografía efectuada al queso panela con un contenido en sólidos totales de 12.5% se observa (figuras 8 y 10) que el polisacárido producido por *Streptococcus thermophilus* SY-102 forma una red tridimensional que interactúa tanto con la matriz proteica del queso como con los *Streptococcus*. Además es evidente que el biopolímero atrapa los glóbulos de grasa lo cual explica el incremento en la retención de grasa. Se observa que la matriz del queso presenta muchas cavidades grandes en los que presumiblemente se encontraba la fase líquida (suero) (figura 7 y 9).





2000 X

FIGURA 9 . MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 12.5% DE ST CON CEPA CONTROL. (MP= MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = *STREPTOCOCCUS*)



2000 X

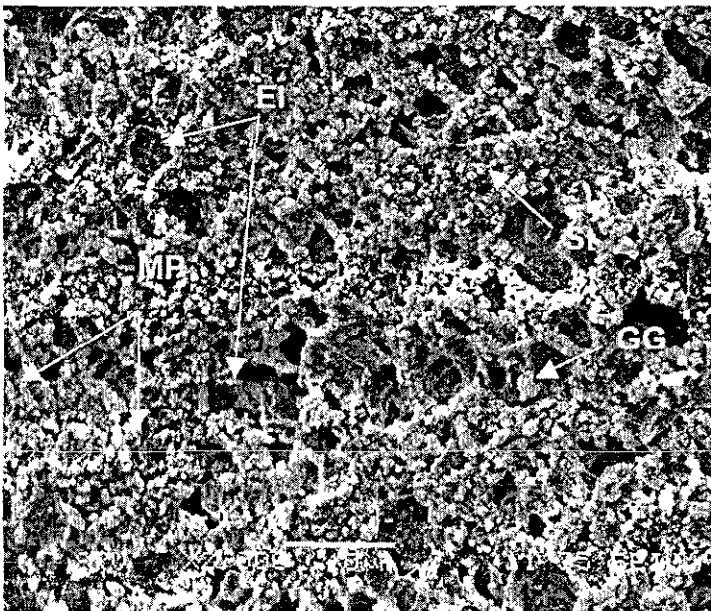
FIGURA 10 . MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 12.5% DE ST CON CEPA FILANTE. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = *STREPTOCOCCUS* , EPS = EXOPOLISACÁRIDO)

Estudios microscópicos previos mostraron que una parte del polisacárido producido por una cepa filante de *Lactobacillus bulgaricus* se entrelaza con las células y la caseína por vía de una red de filamentos visibles, influenciando de esta manera la viscosidad del medio (Botazzi y Bianchi, 1986, Teggatz y Morris, 1990). A pesar de que se trabajó con una cepa distinta, en las micrografías se observa una estructura similar a la mencionada anteriormente (figuras 8 y 10, 13 y 14).

Como menciona Perry y col. (1995) la presencia del polímero resulta de la formación en cavidades en donde se aloja el suero, lo que explica el incremento en la humedad.

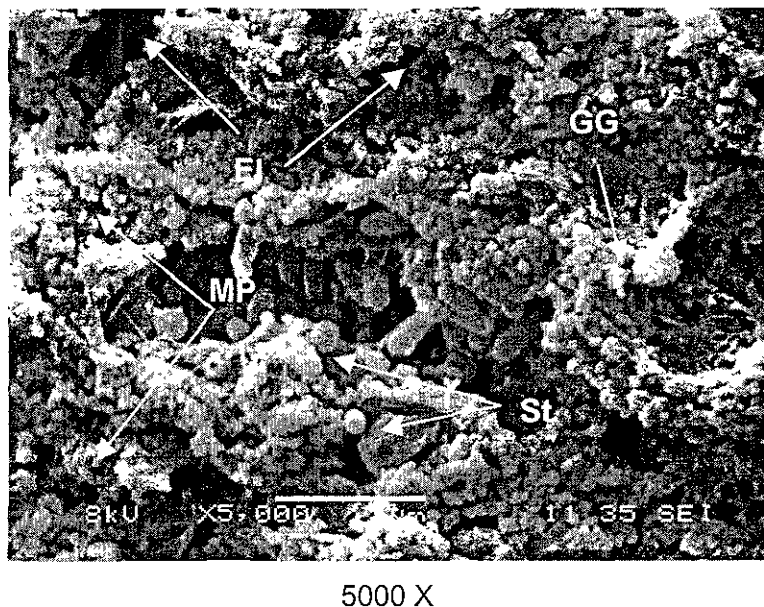
Ashraf y col. (1997) demuestran mediante microscopía láser que la cuajada hecha con bacterias formadoras de cápsula tiene grandes poros, los cuales producen una discontinuidad en la estructura de la misma; de manera opuesta se observa en una cuajada en donde no se utilizó una cepa productora de cápsula, una estructura continua incapaz de retener grandes cantidades de suero; este estudio se realizó tanto con leche baja en grasa como con leche entera, observándose la discontinuidad más notoriamente cuando se utilizó la bacteria formadora de cápsula en la cuajada baja en grasa; por otro lado, al usar la misma cepa, pero en leche entera, se observa una discontinuidad, pero ésta es debida principalmente a los glóbulos grasos, por lo que probablemente, el utilizar tanto leche entera como una cepa productora de exopolisacárido puede dar un efecto sinérgico en la retención de suero.

Por otro lado, en los estudios de microscopía electrónica realizados a quesos panela con una cantidad mayor de sólidos totales (17%) también se observa la presencia del exopolisacárido (figuras 13 y 14) en donde se utilizó la cepa filante, mientras que en los quesos realizados con la cepa control no se observa el biopolímero (figuras 11 y 12).



2,000X

FIGURA 11 . MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 17% DE SÓLIDOS TOTALES, CEPA CONTROL. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, Ei = ESPACIOS INTERSTICIALES, St = STREPTOCOCCUS).

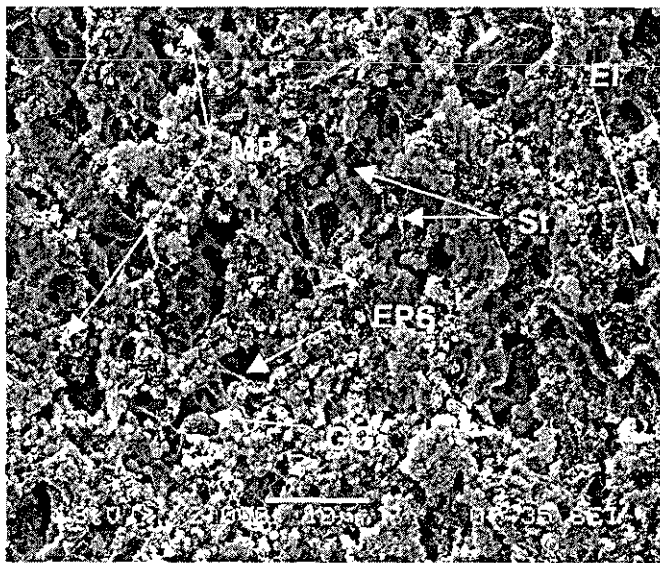


**FIGURA 12. MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 17% DE SÓLIDOS TOTALES, CEPA CONTROL. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = *STREPTOCOCCUS*)**

En las micrografías realizadas a los quesos con mayor cantidad de sólidos se observan espacios intersticiales que pueden representar la cantidad de agua retenida en esa matriz, obteniendo siempre un mayor porcentaje de humedad en aquel realizado con la cepa productora del polímero.

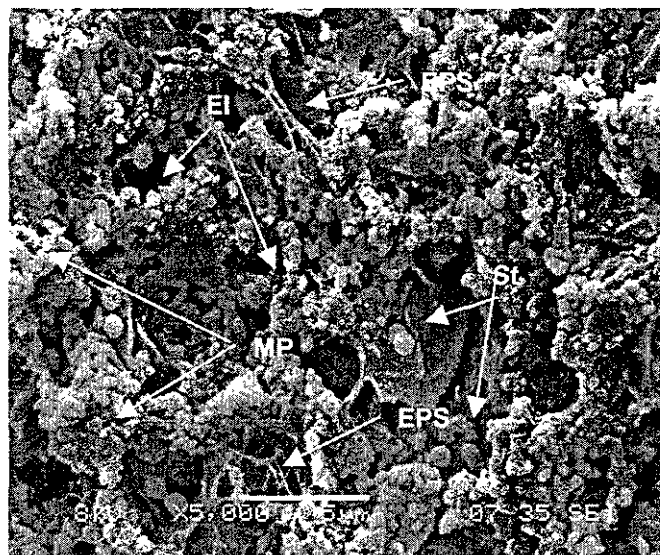
Es perceptible un aumento en la densidad de la matriz proteica de los quesos obtenidos con 17% de sólidos totales, tanto filante como control, con respecto a los realizados con menor cantidad de sólidos debido a que existe una mayor concentración de caseína como consecuencia del incremento en dicho parámetro.

El incrementar la cantidad de caseína (cuyo componente le da el carácter sólido a la estructura del queso) da como resultado el aumentar la firmeza del queso, ya que se incrementan el número de interacciones entre las micelas de caseína. La grasa contenida en el queso es normalmente sostenida por la red de caseína con ello se puede explicar el incremento en la cantidad de grasa retenida en los quesos con mayor porcentaje de sólidos totales (Prentice, 1992), a pesar de que físicamente no se observen los glóbulos grasos en las micrografías; esto puede deberse a que la misma red de caseína es tan densa que no permite la observación de dichos glóbulos y sobre todo, porque la microscopía permite observar un campo muy reducido que no es necesariamente representativo de toda la estructura del queso.



2000 X

FIGURA 13. MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 17% DE SÓLIDOS TOTALES, CEPA FILANTE. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = STREPTOCOCCUS , EPS= EXOPOLISACÁRIDO).



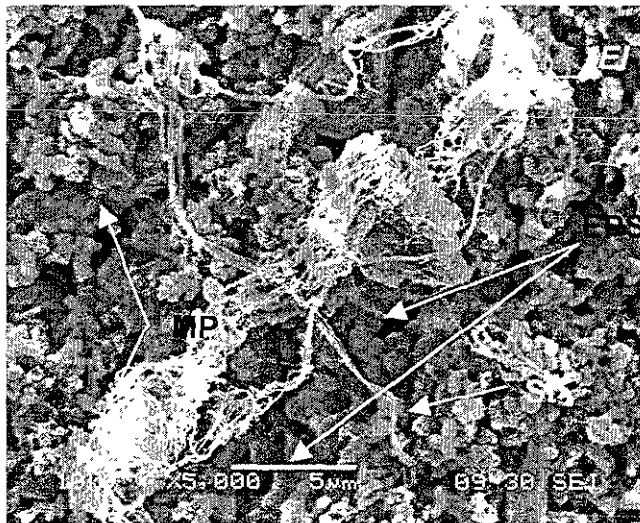
5000 X

**FIGURA 14. MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO PANELA CON 17% DE SÓLIDOS TOTALES, CEPA FILANTE. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, ST = STREPTOCOCCUS , EPS = EXOPOLISACÁRIDO)**

En estudios anteriores en donde se realizó una microscopía electrónica al queso manchego con 12.5% de sólidos totales se confirmó la presencia del exopolisacárido como se observa en la figura 15. También se observa que la matriz del queso presenta muchas cavidades grandes (espacios intersticiales) en los que se encuentra la fase líquida, observando además que en los quesos filantes existe una distribución homogénea de los glóbulos de grasa en la matriz proteica del queso (Flores, 2001).

Los estudios de microscopía electrónica realizados en los quesos manchego elaborados con la cepa filante, mostraron la presencia y adhesión del polisacárido a la matriz proteica, formando una red tridimensional que tiene la capacidad de interactuar tanto con los *Streptococcus* como con la matriz proteica, ayudando de esta manera la retención de agua y grasa en la matriz del queso, generando sistemas menos susceptibles a presentar el fenómeno de sinéresis (Flores, 2001).

Por lo anterior se puede sugerir que en el queso manchego con 17% de sólidos totales ocurre un efecto similar que con el queso panela con el mismo contenido de sólidos.



5000X

FIGURA 15 . MICROGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL QUESO MANCHEGO CON 12.5% DE SÓLIDOS TOTALES, CEPA FILANTE. (MP = MATRIZ PROTEICA, GG = GLÓBULOS DE GRASA, EI = ESPACIOS INTERSTICIALES, St = STREPTOCOCCUS, EPS= EXOPOLISACÁRIDO).

CORTESÍA: Flores, A., 2001.

## Conclusiones

---

- ◆ Durante la fermentación de la leche se observó un incremento significativo en la viscosidad aparente al utilizar la cepa filante *Streptococcus thermophilus* SY-102 ( $\alpha = 0.0075$  en el queso panela con 12.5% y  $\alpha = 0.0004$  en el queso panela con 17% de ST). De igual forma, en la fermentación de la leche para elaborar el queso manchego con 17% de ST se tuvo un aumento significativo en la viscosidad aparente ( $\alpha = 0.0001$ ). Al utilizar leche con mayor contenido de sólidos totales tanto para la elaboración del queso panela como para la elaboración del queso manchego (17%), se obtuvieron valores más altos en la viscosidad aparente al utilizar la cepa filante que cuando se utilizó leche con menor contenido de sólidos totales (12.5%).
- ◆ La viscosidad empezó a aumentar a pH cercanos a 6 lo que concuerda con trabajos previos en donde se dan las condiciones óptimas para la producción del exopolisacárido. La temperatura de la leche durante la fermentación fue de 37°C.



- ◆ El tiempo de fermentación de la leche fue de 120 minutos tanto al utilizar la cepa control como al utilizar la cepa filante para la elaboración del queso panela con 12.5 y 17% de ST. El tiempo de fermentación de la leche destinada a la elaboración del queso manchego con 17% de ST fue de 180 minutos para ambas cepas.
  
- ◆ En el queso panela con 12.5% de ST se registró un aumento significativo ( $\alpha=0.0325$ ) en el rendimiento de 16.83% con respecto al control. En el queso panela con 17% de ST se registró un aumento significativo ( $\alpha=0.0328$ ) de 13.67% con respecto al control. Por último, en el queso manchego con 17% de ST se registró un aumento significativo ( $\alpha=0.0011$ ) de 12.91% a los 7 días y de 12.14% a los 12 días
  
- ◆ En el queso panela con 12.5% de ST hubo un aumento significativo ( $\alpha=0.0001$ ), en la humedad al utilizar la cepa filante de 7.79%. En el queso panela con 17% de ST se registró un aumento significativo ( $\alpha=0.0001$ ) con la cepa filante de 6.37%. En el queso manchego con 17% de ST también se registró un aumento significativo ( $\alpha=0.0001$  en ambos casos), con cepa filante. A los 7 días fue de 16.39% y % a los 12 días fue de 24%.
  
- ◆ Al comparar la diferencia de humedad entre la cepa control y filante en el queso panela con 17% de sólidos totales no se obtuvo una diferencia significativa en la humedad registrada entre la cepa control y la cepa filante con respecto a la humedad registrada en el queso panela con 12.5% de sólidos totales.

- ◆ Al utilizar la cepa productora de exopolisacárido, se registró un aumento significativo ( $\alpha = 0.001$  en ambos casos) en la retención de grasa tanto para el queso panela con 12.5% de ST como para el queso con 17% de ST. Al comparar la grasa retenida entre los quesos panela con diferente concentración de ST, se obtuvo una mayor retención de grasa en el queso con 17% de ST. En el queso manchego con 17% de ST la grasa retenida fue significativamente mayor al utilizar la cepa filante ( $\alpha = 0.001$ ).
  
- ◆ Mediante el estudio de Microscopía electrónica de barrido que se realizó a los quesos panela ( 12.5 y 17% de ST), se pudo comprobar la presencia del exopolisacárido producido por la cepa de *Streptococcus thermophilus*. Se observa que el polisacárido interacciona tanto con la matriz proteica del queso como con los glóbulos de grasa.
  
- ◆ Por último, mediante el estudio de la microscopía electrónica que realizamos pudimos observar las diferencias existentes en la matriz proteica cuando se utilizó una mayor cantidad de sólidos totales en la leche. Así pues, es claro que se tiene una red más densa porque existe una mayor concentración de caseína.
  
- ◆ Como conclusión general, podemos afirmar que al utilizar la cepa productora de exopolisacárido (*Streptococcus thermophilus* Sy-102) se obtuvieron beneficios en el rendimiento, humedad y retención de grasa en los quesos tipo Panela y Manchego en comparación con los resultados obtenidos en dichos parámetros al utilizar la cepa control.

## *Bibliografía*

---

- A-6 Código de Principios FAO/OMS.
- Alais, C., 1991, **Ciencia y Tecnología de la leche, Principios de la Técnica lechera**, editorial. CECSA, México, p.p. 39, 41, 48, 54, 65-66,162, 267-302, 477-537.
- Ashraf, N., Hassan, N.,y Frank J., 1997, **Modification of microstructure and texture of rennet curd by using a capsule-forming non-ropy lactic culture**, J. Dairy Sci. 64, 115-121.
- Botazzi, V. y Bianchi, 1986, F. **Types of microcolonies of lactic acid bacteria, formation of void spaces and polysaccharides in yoghurt**. Sci. Tecn. Latt-Casearia 37, 297-315.
- Boletín del centro de Investigación Daniel Carasso, Agosto 1995, Danone.

- Bruler, G., y Lenoir , J., 1990, *parte 1, Capítulo 1: La coagulación de la leche*, en El Queso, editor Eck, André, Barcelona España, p.p. 4-11, 13-19.
- Cerning, J., 1995, **Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria**, Lait. 75, 463-472.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M. y Desmazeaud, M., 1988, **Exocellular polysaccharide production by *Streptococcus thermophilus***, Biotechnol. Lett. 10, 255-260.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M.J. y Landon, M., 1990, **Comparison of exocellular polysaccharide production by thermophilic lactic acid bacteria**, Sci. Aliments. 10, 443-451.
- Cerning, J., 1995, **Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria**, Lait. 75, 463-472.
- Covarrubias, P. M., Vega, L. S. y Flores, P. N., 1996, **Capítulo 8: Análisis de queso** en Métodos de análisis de la leche y derivados, UAM Xochimilco, México., p.p. 409-419.
- Champagne, C., y Goulet, J., 1991, **Capítulo 3: Microbiología de la leche**, en Ciencia y tecnología de la leche, editor Amiot, J., Zaragoza España, p.p. 97-99, 100-101.
- Charley, H., 1997, **Tecnología de alimentos**, Editorial Limusa 1ª edición. p.767.

- Cherrey, G y Lablee, J., 1990, *parte 5*, Capítulo 2: **El empleo de leche recombinada o reconstituida**, editor Eck, André, Barcelona España, p. 363.
- Choisy, C., Desmazeaud M., Gripon J.C., Lamberet G., Lenoir J., y Tourneur , C., 1990, *parte 1*, **Capítulo 4: Los fenómenos microbiológicos y enzimáticos y la bioquímica del afinado**, en *El Queso*, editor Eck, André, Barcelona España, p.p. 66-69, 71, 77-80, 85-87.
- De Vuyst, L., y Degeest, B., 1999, **Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria**. FEMS Microbiol. Rev. 23, 153-177.
- Dumais, R., Blais, A. y Concrad F., 1991, **Capítulo 9: Queso**, en *Ciencia y tecnología de la leche*, editor Amiot, J., Zaragoza España, p. 278.
- Fennema O., 1995, **Química de los alimentos**. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, p.p. 895, 898-899, 901, 913.
- Flores Nájera, A., 2001, Tesis: **Utilización de *Streptococcus thermophilus* SY-102 productor de exopolisacárido en la elaboración de queso tipo Manchego**. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Fox, B., y Cameron, G., 1982, **Food Science**. Hodder and Stoughton, Educational, Great Britain, p.105.

- Gancel, F y Novel, G.,1994, **Exopolysaccharide Production by *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* cultures.** 2 Distint Modes of polymer production and degradation among clonal variants, J. Dairy Sci., 77, 689-695.
- García-Garibay, M. y Marshall, V.M.E., 1991, **Polymer production by *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*.** J. Appl. Bacteriol. 70, 325-328.
- García - Garibay M., Revah, S., y Gómez-Ruiz, L., 1993, **Capítulo 6: Productos Lácteos,** en Biotecnología Alimentaria, editores: García-Garibay, Mariano, Quintero Ramírez Rodolfo y López Munguía Agustín, ed. Limusa, México, D.F., p.p.179-197.
- Gasseem, M.A., Schimdt, K., y Frank, J., 1995, **Exopolysaccharide production in different media by lactic acid bacteria.** ,Cult. Dairy Prod. J., 30, 18-21.
- Gasseem, M.A., Schmidt, K.A. y Frank, J.F. 1997, **Exopolyssaccharide production form whey lactose by fermentation with *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*.** J. Food Sci. 62, 171-173.
- Grobben G.J., Asikkema, J., Smith, M.R. y De Bont, J.A.M., 1995, **Production of exocellular polysaccharide by *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* NCFB 2772 grown in a chemically defined medium.** J. Appl. Bacteriol. 79, 103-107.

- Hardí , J., *parte 1*, 1990, **Capítulo 3: La actividad del agua y el salado de los quesos**, en *El Queso*, editor Eck, André, Barcelona España, p. 50.
- Hess, S., Roberts, R. y Ziegler, R., 1997, **Rheological properties of non-fat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* producing exopolysaccharide or using comercial stabilizer systems**. *J. Dairy Sci.* 80, 265.
- Kojic, M., Vujic, M., Banina, A., Cocconcelli, P., Cerning, J. y Topisirovic, L., 1992, **Analysis of exopolysaccharide production by *Lactobacillus casei* isolated from cheese**, *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 4086-4088.
- Lemoine, J., Chirat, F., Wieruszeski, G., Favre, N., y Neeser, J., 1997, **Structural characterization of the exocellular polysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* SF 39 and SF12**, *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3512-3518.
- Low D., Ahlgren, J., Horne, D., McMahon, D., Oberg C., y Broadbent R., 1998, **Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention**, *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2147-2151.
- Madrid, A., 1994, **Nuevo manual de técnica quesera**, AMV Ediciones, España, p.p. 69-70, 83-84, 108.
- Norma oficial Mexicana NOM-121-SSA-1994. Bienes y servicios. **Quesos: frescos, madurados y procesados**; Especificaciones sanitarias. SECOFI.

- Perry, D., McMahon, D.J. y Oberg, C.J., 1995, **Effect of exopolysaccharide producing cultures on moisture retention in low-fat mozzarella cheese**, J. Dairy Sci. 80, 799-805.
- Perry, D., McMahon, D.J. y Oberg, C.J., 1997, **Manufacture of low fat mozzarella cheese using exopolysaccharide-producing starter cultures**, J. Dairy Sci. 81, 563-566.
- Porter, J. 1975,, **Leche y productos lácteos**, Editorial Acriba, Zaragoza España, 1975. p.p 9-10.
- Prentice, J., 1992, **Dairy Rheology**, Editorial VCH, U.S.A., 1992. p.p. 97-111.
- Ramet, J., Choisy, C., y Chopin M., 1990, *Parte II* cap.2: **Los agentes de la transformación de la leche**, en El Queso, editor: Eck, André, Barcelona España, p. 101.
- Rawson, L., y Marshal M., 1997, **Effect of 'ropy' strains of Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus on rheology of stirred yogurt**. Int. J. Food Sc. Technol. 32, 213-220.
- Richard, J., Auclair, J., Schneid N., Hermier, J., Cerf, O., Maubois, L. y Desmazeud, M., 1990, *parte 2*, Cap 2: **La leche de quesería**, en El Queso, editor Eck, André, Barcelona España, p.p. 134 135, 159-160.



- Riel, R., 1991, **Capítulo 1: Composición y estructura fisicoquímica de leche**, en Ciencia y tecnología de la leche, editor Amiot, J., Zaragoza España, p.p. 5-6,12,14-15, 23-28, 31, 33-36.
- Schellhaass, S. M. y Morris, H. A., 1985, **Rheological and scanning electron microscopic examination of skim milk gels obtained by fermenting with ropy and non-ropy strains of lactic acid bacteria**, Food Microstruct. 4, 279-287.
- Scott, R., 1991, **Fabricación de queso**. Editorial Acriba, España, p.p. 61, 64.
- Sutherland, I.W., 1990, **Biotechnology of microbial exopolysaccharides**. Cambridge University Press, Cambridge, UK. p.p. 80-84.
- Teggatz, J.A. y Morris, H.A.,1990, **Changes in the reology and microstructure of ropy yogurt during shearing**, Food Struct. 9, 133-138.
- Van der Berg, D.J.C., Rogjin, G.W., Janssen, A.C., Giuseppin, J.L.F., Vreeker, R., Kamerling, J.P., Vliegenthart, J.F.G., Ledebøer, A.M., y Verrips, C.T., 1995, **Production of a novel extracellular polysaccharide by Lactobacillus sake 0-1 and characterization of the polysaccharide**. Appl. Environ. Microbiol. 61, 2840-2844.
- Varnam, A., y Sutherland, J., 1994, **Leche y Productos Lácteos**. Editorial Acriba, España, p. 14.

- Villegas Abraham, 1993, **Los quesos mexicanos**, Editorial CIESTAAM. México, p.p. 15-18, 23, 26-27, 113-116.
- Villegas, J., 1995, Tesis: **Estrategias para la obtención de una cepa hiperproductora de exopolisacárido en bacterias lácticas de *Streptococcus salvarius* subsp. *thermophilus***. UNAM.
- Wachter - Rodater, C., Galván, M.V., Fárres, A., Gallardo, F., Marshall, V.M.E. y García Garibay, M.; 1993, **Yoghurt Production from a reconstituted skim milk powders using different polymer and non-polymer forming starter cultures**, J. Dairy Res. 60, 247-254.
- Weber , F., 1990, *parte 1*, **Capítulo 2: El desuerado del coágulo**, en El Queso, editor Eck, André, Barcelona España, p.p. 21-23, 28.
- Whitfield,C.,1988, **Bacterial extracellular polysaccharides**, Canadian J Microbiol., 34, 415-420.
- Zourari, A., Accolas, J.P. and Desmazeaud, M.J., 1992, **Metabolism and biochemical characteristic of yogurt bacteria**. A review, Lait. 72, 1-34.
- [http://www.danonenewsletter.fr/eng/news\\_5/tb1nw5.html](http://www.danonenewsletter.fr/eng/news_5/tb1nw5.html)
- <http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/chem.html>
- [http://www.mexconnect.com/mex\\_/recipes/puebla/kgqueso1.html](http://www.mexconnect.com/mex_/recipes/puebla/kgqueso1.html)

## CÁLCULOS

### RENDIMIENTO

El rendimiento quesero es la expresión matemática de la cantidad de queso obtenida a partir de una determinada cantidad de leche. Se puede expresar por el número de kg de queso obtenidos a partir de 100 kg de leche (Amiot, 1998).

El rendimiento fue calculado con la siguiente fórmula:

$$R = \frac{P_1}{P_2} \times 100$$

Donde:

R = rendimiento del queso en %

P<sub>1</sub> = peso del queso final (g)

P<sub>2</sub> = peso de la leche total (g)

### **DETERMINACIÓN DE GRASA**

Método de Gerber (según el principio Schmid-Bendzynski-Ratzlaff).  
(Covarrubias, 1997).

Se fundamenta en el empleo de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, alcohol isoamílico y la fuerza centrífuga para separar la grasa del queso mediante la degradación de las proteínas del queso y la separación de la emulsión.

#### *Preparación de la muestra*

- Moler la muestra con un rallador hasta obtener una masa homogénea.

#### *Procedimiento*

- Pesar 3g de queso y colocarlos en un butirómetro de queso.
- Añadir por la abertura pequeña del butirómetro 10 mL de ácido sulfúrico, agregar 5mL de agua y 1mL de alcohol isoamílico.
- Agitar el butirómetro hasta disolver las proteínas.
- Calentar a 65±2 °C hasta ver aparecer una ligera capa de grasa.

- Centrifugar (centrífuga Gerber K. SCHNEIDER & CO) 10 minutos y realizar la lectura de grasa en la escala del butirómetro.

#### **DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES**

El contenido de sólidos totales se determinó mediante la evaporación del agua de la muestra a una temperatura de 102°C en una estufa de desecación.

##### *Preparación de la muestra.*

- Moler la muestra hasta obtener una masa homogénea, tener cuidado de evitar la pérdida de humedad

##### *Procedimiento*

- Calentar una cápsula en la estufa de desecación a 102 ± 1°C hasta obtener su peso constante (observando una diferencia menor a 0.5 mg).
- Colocar 3 g de muestra en la cápsula y calentar en una estufa a 102°C durante 2 horas.
- Dejar enfriar en un desecador, pesar y volver a colocarla en la estufa a la misma temperatura 1 hora.
- Repetir lo anterior hasta que la diferencia de masa de dos pesadas sucesivas no sea mayor de 0.5mg.

a) *Sólidos Totales*

$$ST = \frac{m_2 - m_1}{m_1 - m_0} \times 100$$

Donde:

ST= Sólidos totales, en % (m/m)

$m_2$ = Peso final de la cápsula con la muestra

$m_1$ = Peso inicial de la cápsula con la muestra

$m_0$ = Peso de la cápsula sin muestra

b) *Humedad*

Se calcula por diferencia

$$\% H = 100\% - \% ST$$

Donde:

H = Humedad

ST = Sólidos totales

c) *Grasa base seca*

$$\text{GBS} = \frac{\% \text{ MG}}{\% \text{ ST}} \times 100$$

Donde:

GBS = Grasa en base seca (%)

MG = Materia grasa

ST = Sólidos totales

d) *Sólidos no grasos*

$$\text{SNG} = \% \text{ ST} - \% \text{ MG}$$

Donde:

SNG = Sólidos no grasos (%)

ST = Sólidos totales

MG = Materia grasa

e) *Sólidos no grasos base seca*

$$\text{SNGBS} = \frac{\text{SNG}}{\text{ST}} \times 100$$

donde:

SNGBS = Sólidos no grasos base seca (%)

SNG = Sólidos no grasos

ST = Sólidos totales

F)) Grasa retenida

Se realizó mediante un balance de materia en donde se tomaron en cuenta los pesos tanto de la leche (materia prima inicial) como del queso (producto).

$$L \times G = M$$

$$P \times N = Q$$

$$\text{Entonces } M = 100\%$$

$$Q = X$$

Donde:

L= Peso inicial de la leche

G= % grasa de la leche

M = Gramos de grasa totales en la leche

P= Peso del queso

N= % grasa del queso

Q= Gramos de grasa totales en el queso

X = % de grasa retenida en el queso