

## **4 DISCUSIÓN GENERAL**

En los estudios que componen esta memoria de tesis se han utilizado dos formatos de queso. En los estudios preliminares se utilizaron quesos de pequeño formato (de unos 250 g) para poder observar los efectos de los distintos tratamientos de alta presión. Después de estos estudios se elaboraron quesos de mayor formato (aproximadamente 1,3 kg) que fueron procesados a 400 MPa durante 5 min en las instalaciones de Espuña S.A., en Olot, en este caso no se utilizaron las otras condiciones de tratamiento que en los quesos de pequeño formato dieron unos resultados menos satisfactorios. Sobre estos quesos pudieron validarse los estudios realizados inicialmente en quesos de formato reducido, a la vez que permitía trabajar con tiempos de maduración más prolongados.

### **4.1 COMPOSICIÓN GENERAL. EFECTO SOBRE EL AGUA**

La composición general del alimento no se ve afectada por el tratamiento de presión. Pero sí se observó un efecto sobre la evolución del contenido en agua de los quesos. Los quesos tratados por alta presión perdieron menos agua durante la maduración que los quesos no tratados (Saldo, McSweeney, Sendra, Kelly y Guamis, 2000; Saldo, Sendra y Guamis, 2000). Después del tratamiento del queso a 50 MPa durante 72 horas se pudo observar que la distribución entre agua libre y ligada, determinadas por termogravimetría, se desplazó hacia una mayor proporción de agua ligada respecto a la distribución en los quesos no tratados. El efecto del tratamiento de 400 MPa durante 5 min en la forma en que se liga el agua en los quesos y su evolución durante la maduración se estudió en el capítulo 3.6 (Saldo, Sendra y Guamis, 2002a). El efecto del tratamiento se manifestó como un incremento en la fracción de agua ligada, que a través de una serie de equilibrios cinéticos y termodinámicos permitió una menor pérdida de agua libre durante la maduración del queso.

Los tratamientos de alta presión ensayados promueven la distribución de la sal dentro del queso, aumentando la concentración en el interior del queso y reduciendo el gradiente de sal más rápidamente (Saldo, McSweeney, Sendra, Kelly y Guamis, 2002). Los ensayos realizados por otros investigadores para acelerar el salado de quesos mediante alta presión habían sido infructuosos (Messens, Dewettinck, Van Camp y Huyghebaert, 1998; Messens, Dewettinck y Huyghebaert, 1999; Pavia, Trujillo, Guamis y Ferragut, 2000). La diferencia con el método utilizado por otros investigadores estribó en que Messens (1998; 1999) y Pavia (2000) trataron los quesos sumergidos en salmuera. Los quesos objeto de los estudios que componen la presente memoria de tesis fueron tratados el día siguiente de haberlos retirado de la salmuera.

La mayor concentración de solutos en la parte interior de los quesos tratados por alta presión, en forma de sal y productos de proteólisis, puede contribuir a disminuir la pérdida de agua por evaporación en los quesos expuestos a alta presión. Pero el mayor contenido en humedad de estos quesos

fue también acompañado de una mayor actividad de agua (Saldo y col., 2002a), indicando que otros cambios, como los producidos en la microestructura del queso, pueden estar implicados en el fenómeno.

## 4.2 PROTEOLISIS

El principal criterio para evaluar la maduración de un queso es su proteolisis. Por esta razón ha sido estudiado en gran detalle en el presente trabajo. La primera descripción de la utilización de alta presión para acelerar la maduración de un queso fue la patente presentada por Yokoyama y col. (1992) que fue revisada por distintos autores (Saldo, Sendra y Guamis, 1999).

En el capítulo 3.1 (Saldo y col., 1999) se estudió el efecto de un tratamiento de 50 MPa durante 72 horas a 25 °C en la maduración de un queso de cabra tipo Garrotxa. Se observó que los índices de maduración (nitrógeno soluble a pH 4,6 y soluble en TCA 12%) fueron mayores en los quesos sometidos al tratamiento de alta presión. El efecto fue debido en parte al aumento de temperatura durante las 72 horas de tratamiento, como se demostró al comprobar también un aumento, aunque menor, en los mismos índices en el queso mantenido a presión atmosférica y a 25 °C. El efecto de la presión en la aceleración de la proteolisis resulta influenciado por los días de pre-maduración previos al tratamiento de alta presión. En un estudio similar realizado sobre queso Cheddar, dentro del proyecto FAIR-CT96-1113, se comprobó que al aumentar el tiempo de pre-maduración previo al tratamiento de presión disminuía la efectividad de éste (O'Reilly, O'Connor, Murphy, Kelly y Beresford, 2000).

En el capítulo 3.2 (Saldo y col., 2000) se comparan distintas estrategias de tratamiento por presión como son un tratamiento largo a presión moderada (50 MPa durante 72 horas a 14 °C) para acelerar los fenómenos enzimáticos durante el tratamiento, un tratamiento intenso pero corto (400 MPa durante 5 min a 14 °C) para promover el vertido de enzimas citoplasmáticos del fermento y acelerar la maduración en las condiciones habituales de tiempo, temperatura y humedad relativa, y la combinación de ambos (400 MPa durante 5 min, seguido de 50 MPa durante 72 horas). Se observa que el tratamiento de 50 MPa acelera la maduración únicamente durante el proceso, recuperando las mismas velocidades de proteolisis que el queso control al volver a la presión ambiente. El tratamiento de 400 MPa produce un cambio permanente en las velocidades de proteolisis, siendo mayores que en el queso control. El tratamiento combinado fue el que produjo una mayor proteolisis, tanto primaria como secundaria.

Inmediatamente tras un tratamiento de alta presión la concentración de aminoácidos libres disminuye en los quesos. En los resultados presentados en los capítulos 3.2 (Saldo y col., 2000) y 3.4 (Saldo y col., 2002) se observa una clara disminución en el contenido en aminoácidos libres en los quesos procesados a 400 MPa. Durante la posterior maduración de estos quesos el mayor ritmo de proteolisis produjo que el contenido en aminoácidos libres superase al de los quesos control durante la maduración en condiciones regulares. Este

sorprendente hecho fue presentado y discutido por Sendra y col. (2000) en un trabajo en que rastrearon las evidencias bibliográficas. Parece existir un umbral para la aparición de éste fenómeno hacia los 300 MPa. La desaparición de aminoácidos libres no parece estar ligada con la hidrólisis de éstos, ya que el contenido de nitrógeno no proteico medido mediante el método de Kjeldahl sobre la fracción soluble en TCA 12% disminuye del mismo modo que los aminoácidos libres medidos mediante la reacción con Cd-Ninhidrina o cuantificados por HPLC tras ser derivatizados con OPA. Los mecanismos más probables que expliquen la desaparición de parte de los aminoácidos libres son su asociación con las células del fermento, ligados a la pared o incorporados en el citoplasma gracias a la mayor permeabilidad causada por la alta presión, o su asociación con moléculas de mayor tamaño. El mecanismo real continúa sin haber sido elucidado y deberá ser motivo de estudios adicionales.

En el estudio detallado de los productos de proteolisis presentado en el capítulo 3.4 (Saldo y col., 2002) se observa que los perfiles de productos de proteolisis, tanto primaria como secundaria, no son diferentes entre los quesos control y los tratados a 50 MPa durante 72 horas, pero sí respecto a los tratados a 400 MPa. El análisis multivariante de las caseínas y sus productos de degradación de elevado peso molecular (analizado mediante urea-PAGE), de los péptidos (analizados mediante RP-HPLC de la fracción soluble) y de los aminoácidos libres (analizados por RP-HPLC de la fracción soluble en TCA al 12%) mostró en todos los casos a las muestras de quesos tratados a 400 MPa como parte de una agrupación separada de las otros dos. La divergencia se acentuó a lo largo de todo el periodo de maduración. El efecto del tratamiento de 50 MPa durante largo tiempo también causa un incremento en el ritmo de proteolisis, pero sin cambiar las rutas proteolíticas (O'Reilly y col., 2000).

La actividad de los enzimas coagulantes retenidos en el queso y de la plasmina causa la hidrólisis primaria de las caseínas, proporcionando péptidos que pueden ser utilizados como sustrato por procesos de proteolisis secundaria. La actividad de la plasmina no resultó afectada por ninguna de las condiciones de alta presión ensayadas (400 MPa durante 5 min o 50 MPa durante 72 horas). El tratamiento de 400 MPa si que redujo de forma significativa la actividad coagulante residual. El cuajo muestra una afinidad preferente hacia las  $\alpha_s$ -caseínas y así la cantidad de estas en los quesos tratados a 400 MPa se mantuvo mayor que en los quesos control, que mantuvieron intacta la actividad de ésta enzima (Saldo y col., 2002).

Los quesos tratados por alta presión presentaron una mayor proporción de péptidos hidrófobos, especialmente los quesos tratados a 400 MPa (Saldo y col., 2002). Los péptidos hidrófobos de alto peso molecular han sido relacionados con la presencia de sabores amargos. El análisis sensorial de los quesos indicó que los panelistas percibían los quesos tratados por alta presión como ligeramente más amargos que los quesos control, siendo los más amargos los quesos tratados a 400 MPa (Saldo y col., 2000). La reducción en la proteolisis primaria, y más específicamente la falta de actividad desamargante producida por la

reducida proteólisis secundaria pueden permitir ligar la reducida actividad residual del cuajo con los sabores amargos en los quesos tratados a 400 MPa.

La producción de aminoácidos libres fue equivalente entre los queso control y los tratados a 50 MPa durante 72 horas durante toda la etapa de maduración del queso. Hacia la segunda parte de la maduración de los quesos el ritmo de producción de aminoácidos libres se aceleró en los queso que habían sido tratados a 400 MPa (Saldo y col., 2000; Saldo y col., 2002). El aumento en la actividad peptidolítica se debió a un aumento en la actividad de las peptidasas y no en un mero incremento en los péptidos que sirven de sustrato a esta reacción, como muestra el aumento en los niveles de aminoácidos libres sin un aumento en la cantidad de péptidos. Las peptidasas en el queso provienen del citoplasma de las bacterias lácticas, y el incremento en la actividad de dichos enzimas debe ser debido a un mayor contacto entre sustrato y enzima. Las peptidasas deben haber sido liberadas por la lisis causada por el tratamiento de alta presión aplicado.

Dentro de los estudios que permiten descartar efectos no deseables del procesado de alimentos por alta presión se puede destacar el estudio de Novella Rodríguez y col. (2002) en que se observó que el tratamiento del queso Garrotxa a 400 MPa redujo los niveles de producción de aminas biógenas, especialmente tiramina.

La mayor actividad de agua, junto con su ligeramente mayor pH y el verosímil vertido de enzimas intracelulares producido por la reducción de los recuentos de bacterias lácticas, forman parte de los mecanismos por los que se acelera la proteólisis en los quesos tratados por alta presión.

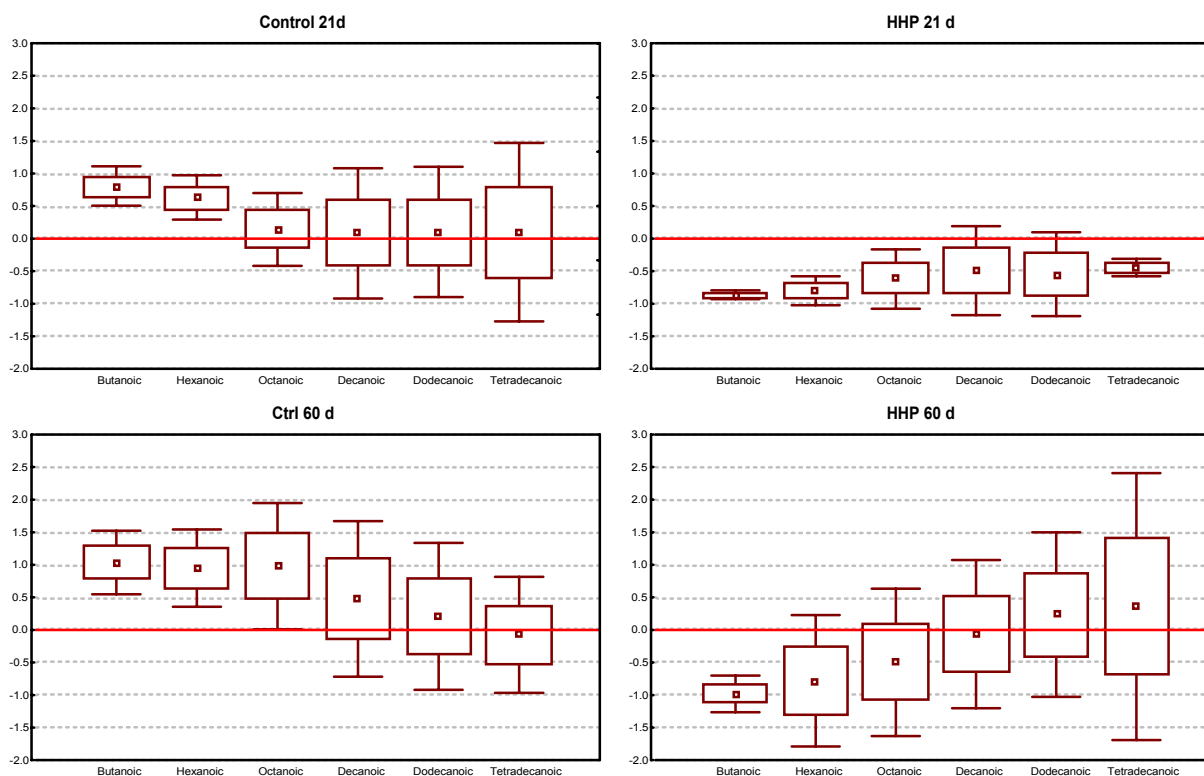
### **4.3 LIPOLISIS**

En la Figura 3 se representa la distribución normalizada de los resultados de la cuantificación de los ácidos grasos libres de longitud de cadena par. Se han comparado dos tiempos de maduración (21 y 60 días) y 2 tratamientos (control y 400 MPa durante 5 min a 14 °C). El valor cero, representado por la línea roja, indica el valor promedio para cada ácido graso tomando de forma conjunta todas las muestras.

La lipólisis en el queso Garrotxa es poco intensa, debido al hecho que la lipasa endógena de la leche es inactivada por el tratamiento térmico de pasteurización y a que el fermento utilizado tiene poca actividad lipolítica. La cantidad de ácidos grasos libres no varió significativamente durante el periodo estudiado (días 21 y 60 de maduración) según se puede observar en la Figura 1.

Comparando el efecto del tratamiento se observa que las concentraciones de los ácidos butanoico, hexanoico y octanoico encontradas fueron significativamente menores en los quesos tratados por alta presión. Es conocido que la lipasa de los lactococos actúa preferentemente sobre la posición alfa de los triglicéridos, que es el lugar en que predominantemente se encuentran los ácidos grasos de cadena corta (Buffa, Guamis, Pavia y Trujillo, 2001a). La

reducción en los recuentos de bacterias starter y una verosímil inactivación de sus lipasas por efecto de la presión son la causa de una reducción en la cantidad de ácidos grasos de cadena corta liberados. Dado que estos ácidos grasos de cadena corta, junto con los ácidos grasos ramificados, son los de mayor impacto en el aroma típico de los quesos de cabra, sería de esperar una implicación en el aroma, perdiendo su intensidad en carácter especie específico.



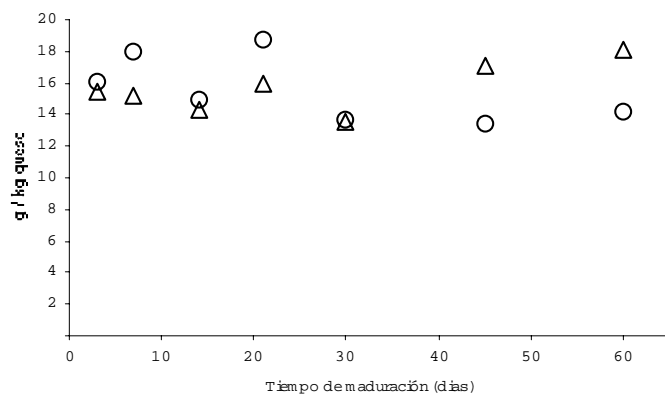
**Figura 3.** Diferencias en la concentración de ácidos grasos libres en quesos según el tiempo de maduración (21 y 60 días) y tratamiento aplicado (HHP -400 MPa, 5 min, 14 °C- y control).

Dentro de los 25 compuestos volátiles que se extrajeron mediante destilación y extracción simultánea sobre queso Garrotxa, el tratamiento de 400 MPa produjo escasas diferencias. No se detectó la formación de ningún compuesto nuevo en los quesos tratados por alta presión. El efecto más destacado de la presión fue la reducción en la lipólisis, previniendo la aparición de sabores rancios por un exceso de lipólisis. El análisis sensorial de quesos Garrotxa sometidos al mismo tratamiento de 400 MPa durante 5 min no mostró diferencias significativas respecto al control (Saldo y col., 2000).

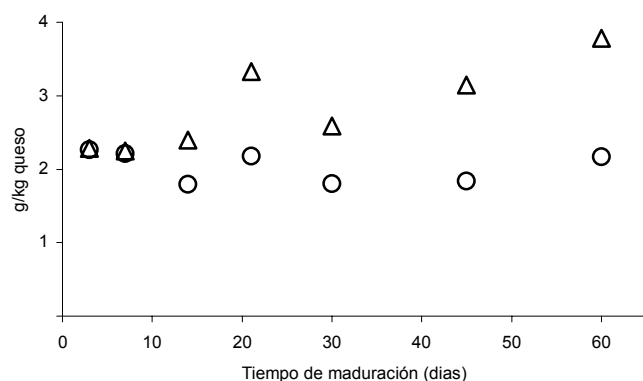
#### 4.4 GLICOLISIS

El tratamiento de alta presión en queso causa un aumento en su pH. Otro efecto es la disminución de los recuentos de bacterias lácticas. Pero el efecto sobre el pH no parece deberse directamente a una disminución en la producción de ácido por parte de la microbiota del queso.

La variación del pH de los quesos fue discutida en breve en el trabajo presentado en el capítulo 3.4 (Saldo y col., 2002). El incremento en el pH debido al tratamiento de 400 MPa fue irreversible y se mantuvo durante la maduración del queso.



**Figura 4.** Variación de la concentración de los principales ácidos orgánicos en el queso Garrotxa (ácido láctico a la izquierda y ácido cítrico a derecha) durante la maduración de los quesos control (O) y tratados por alta presión (Δ).



En un estudio todavía no publicado en que se estudió la evolución de los ácidos orgánicos pudo observarse que la concentración de ácido láctico (Figura 4), no resultó afectada ni por el tiempo de maduración ni por el tratamiento de presión recibido por el queso. La concentración de ácido cítrico fue inferior a la de láctico en casi un orden de magnitud, pero todavía muy superior a la del resto de ácidos orgánicos en el queso. La concentración de cítrico resultó afectada por la presión, aumentando durante la maduración de los quesos tratados a 400 MPa.

Tiempo de maduración (días)	Tratamiento del queso	
	Ctrl	HHP
3	4,9	5,0
7	4,9	5,1
14	4,8	5,1
21	4,8	5,1
30	4,8	5,0
45	5,1	5,0
60	5,0	5,1

**Tabla 1.** Variación del pH en el queso control y el tratado por alta presión (400 MPa, 14 °C, 5 min).

Los valores de pH presentados y discutidos en los en los capítulos 3.2 (Saldo y col., 2000) y 3.4 (Saldo y col., 2002) corresponden a quesos de pequeño formato que fueron tratados por alta presión con mayor rapidez tras su elaboración. El reducido formato implica menores tiempos de prensado y salado necesarios. El tratamiento de alta presión fue así mismo realizado en las instalaciones del Centre Especial de Recerca Planta de Tecnologia dels Aliments. Los quesos de gran formato a que se refieren los resultados de la Tabla 1 requirieron más largos tiempos de prensado y salado y recibieron su tratamiento de alta presión en las instalaciones de Espuña, S.A., en Olot (~100 km desde la Planta de Tecnologia dels Aliments). En el momento del tratamiento la acidificación de los quesos ya había alcanzado un máximo y el efecto de aumento de pH (Tabla 1) no supuso ninguna interrupción en la acidificación.

## 4.5 MICROBIOLOGÍA

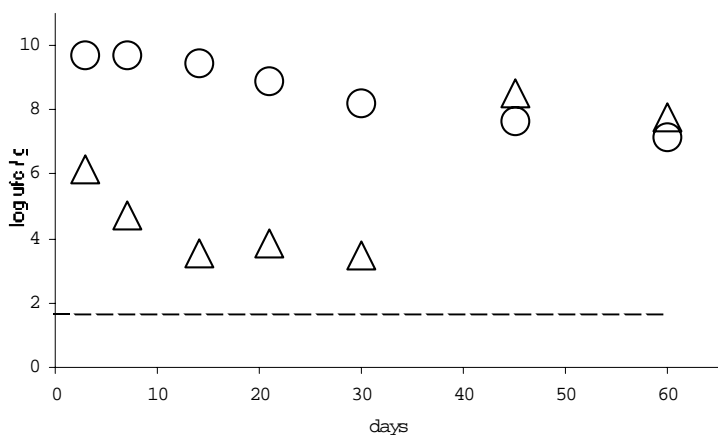
Los quesos objeto del presente estudio fueron elaborados a partir de leche pasteurizada. El objeto más interesante de estudio microbiológico fueron, pues, las bacterias lácticas.

En un estudio realizado sobre quesos de pequeño formato (unos 200 g) se observó que el tratamiento de 50 MPa durante 72 horas tuvo un efecto muy reducido en los recuentos de bacterias lácticas starter (disminución de un ciclo logarítmico), recuperando rápidamente su número tras el tratamiento (Saldo y col., 2000). El tratamiento de 400 MPa durante 5 min produjo una importante reducción, de aproximadamente 3 ciclos logarítmicos. La población de bacterias lácticas starter, contadas en agar M17, se recuperó durante la maduración de los quesos tratados a 400 MPa y tras tres semanas fue casi idéntica a la de los quesos no tratados (Saldo y col., 2000).

En un estudio sobre quesos de mayor formato (~1,6 kg), que permitían el seguimiento durante un periodo de maduración más largo, se siguió la evolución de distintos grupos bacterianos en quesos tratados a 400 MPa durante 5 min y quesos no tratados. Se realizaron recuentos de lactococos (M17<sub>a</sub> incubado a 30 °C durante 48 h en microaerofilia), lactobacilos (LBS<sub>a</sub> incubado a 30 °C durante 72 h en microaerofilia), enterobacterias (VRBG<sub>a</sub> incubado a 30 °C durante 72 h en microaerofilia), enterococos (siembra en superficie en KAA<sub>a</sub> incubado a 37 °C durante 48 h) y micrococcos (siembra en superficie en MS<sub>a</sub> incubado a 37 °C durante 48 h) a los 4, 7, 14, 21, 30, 45 y 60 días de maduración.

Los lactococos mostraron un declive constante en su número desde los primeros días de maduración ( $10^9$  en el día 4,  $10^7$  en el día 60) en el queso control (Figura 5). El tratamiento de alta presión causó una importante letalidad en los lactococos, reduciendo su población en unos tres ciclos logarítmicos, como ya se había observado en los quesos de pequeño formato. Más tarde, durante la maduración del queso los recuentos de lactococos se

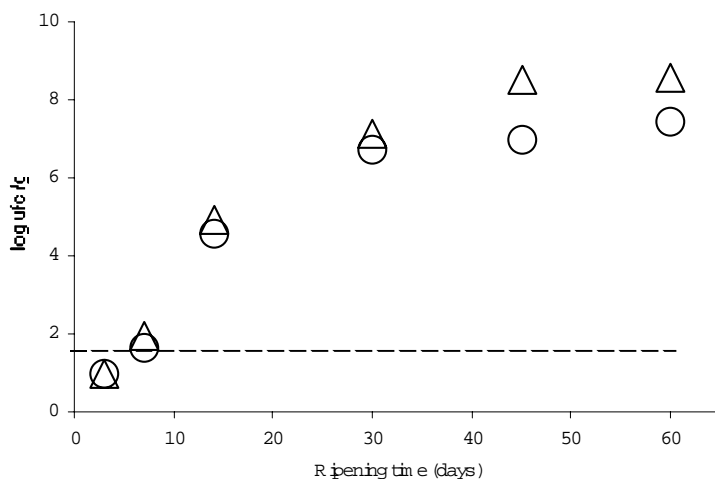
recuperaron, igualando en número a los quesos control al final de la maduración.



**Figura 5.** Evolución de los recuentos de lactococos en quesos de gran formato (~1,5 kg) no tratados (O) y tratados a 400 MPa durante 5 min a 14 °C (Δ).

Buffa y col. (2001b) trataron leche de cabra (500 MPa durante 15 min a 20 °C) para destinarla a la elaboración de queso. Observaron una importante letalidad en todos los grupos estudiados, superior en general a las 3 unidades logarítmicas. El grupo más resistente a la presión fue el de los micrococos, coincidiendo en este caso termo- y baroresistencia. En el queso recién elaborado observaron presencia de lactobacilos que habían desaparecido de los recuentos en leche tratada por alta presión. La evolución de los recuentos de lactobacilos durante la maduración del queso fue típica, alcanzando recuentos de hasta  $10^9$  ufc/g.

Las bacterias lácticas no-starter provienen en parte de los supervivientes de la pasteurización, y mayormente de la contaminación banal producida durante la elaboración del queso. Al inicio de la maduración su número se encuentra por debajo del límite de detección (Figura 6). Durante la maduración su número aumenta, compitiendo con los lactobacilos al resistir condiciones de pH más ácidas y mayores niveles de sal. En el queso tratado por alta presión los recuentos de lactobacilos alcanzaron un mayor número, coincidiendo con el efecto producido por la presión sobre los lactococos, que redujeron su número.



**Figura 6.** Evolución de los recuentos de lactobacilos en quesos de gran formato (~1,5 kg) no tratados (O) y tratados a 400 MPa durante 5 min a 14 °C (Δ).



Los enterococos son resistentes a múltiples condiciones adversas. Por ello no resulta extraño que los recuentos en queso control y tratado por alta presión no sean distintos después del tratamiento. Su número apenas varió tampoco durante la maduración del queso, manteniéndose en unas  $10^2$  ufc/g.

Los micrococos pueden jugar un papel importante en la maduración del queso gracias a su completo sistema proteolítico. Su número se mantuvo cercano a  $10^3$  ufc/g durante todo el periodo de maduración del queso, con una ligera reducción

No se han realizado estudios de inactivación de microorganismos patógenos por aplicación de alta presión sobre queso Garrotxa, aunque sí sobre queso fresco (Capellas, Mor-Mur, Sendra, Pla y Guamis, 1996). O'Reilly y col. (2000) también estudiaron la posibilidad de eliminar algunos de los contaminantes que se presentan en queso mediante la aplicación de alta presión.

## 4.6 TEXTURA Y MICROESTRUCTURA

Los efectos de la presión sobre la textura del queso Garrotxa fueron estudiados mediante ensayos de compresión uniaxial y de relajación de esfuerzo, como ensayos en que se somete a la muestra a una gran y a una pequeña deformación, respectivamente. Del ensayo de compresión uniaxial pueden estudiarse los parámetros:

- Módulo de deformabilidad (E). Pendiente inicial de la curva de esfuerzo-relajación
- Esfuerzo de fractura ( $\sigma_f$ ). Valor de esfuerzo en el primer máximo local.
- Deformación de fractura ( $\varepsilon_f$ ). Valor de deformación en el primer máximo local.
- Trabajo de fractura ( $W_f$ ). Área bajo la curva desde el momento inicial hasta el primer máximo local.
- Esfuerzo en la máxima deformación aplicada ( $\sigma_{0,7}$ ).
- Esfuerzo de adhesión ( $\sigma_{ad}$ ). Esfuerzo de signo negativo debido a la adherencia de la muestra a la sonda durante la elevación de la misma tras la compresión.

Las curvas de relajación de esfuerzo pueden modelizarse según una linealización propuesta por Peleg y Normand (1983)

$$\frac{\sigma_0 \cdot t}{\sigma_0 - \sigma} = k_1 + k_2 \cdot t$$

En el estudio presentado en el capítulo 3.2 (Saldo y col., 2000) se observó que las diferencias causadas por la presión se atenuaban durante la maduración del queso. A pesar de eso al final de la maduración el panel de catadores consideró que los quesos tratados por presión eran más elásticos y menos quebradizos que los quesos no tratados. Y los cambios de textura fueron más

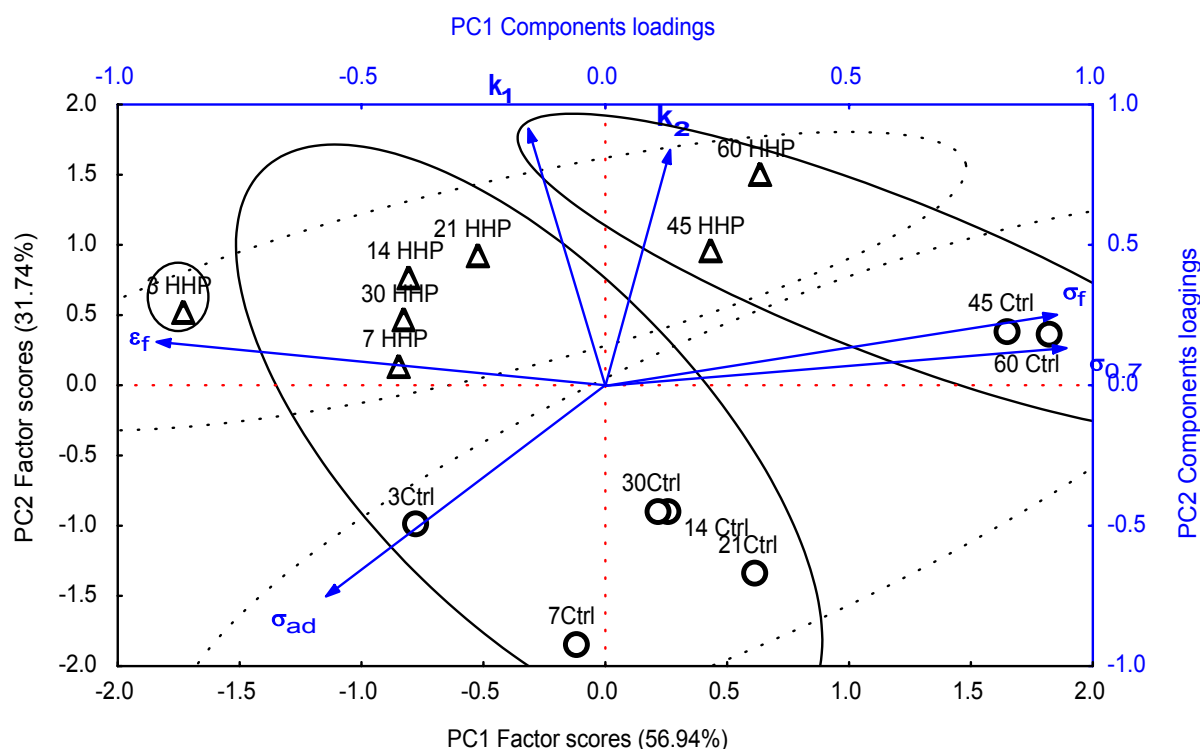
marcados en los quesos tratados a 50 MPa durante 72 horas. Los efectos de este tratamiento fueron estudiados con detenimiento en el trabajo presentado en el capítulo 3.3 (Saldo, Sendra y Guamis, 2001).

Los efectos sobre la microestructura del queso pueden atribuirse a los cambios en la forma en que las proteínas se ligan entre sí. Parte de los puentes de hidrógeno e interacciones hidrostáticas entre las proteínas del queso control se han roto en el queso tratado por presión. Las interacciones electrostáticas, mucho más débiles, se convierten en las más importantes en el mantenimiento de la estructura del queso presurizado. Cuando se trata leche por alta presión las micelas de caseína se desorganizan, volviendo a organizarse al volver a presión ambiente. Las micelas en leche después de haber sido expuestas a alta presión no revierten a la misma morfología inicial (Law, Leaver, Felipe, Ferragut, Pla y Guamis, 1998). Huppertz y col. (2002) indican que una disolución parcial del fosfato cálcico coloidal causa los cambios en las micelas de caseína por la desintegración de las micelas de caseína o de los agregados de caseína y proteínas séricas de una forma irreversible.

Los cambios en el balance mineral modifican el pH del queso. El aumento del pH de la leche resulta en gran parte reversible, pero en queso se mantiene. Podemos considerar el queso como un sistema mucho más concentrado que la leche y los efectos asociados al equilibrio de calcio resultan tener una mayor magnitud en él. La poca movilidad de los componentes también dificulta el retorno al estado inicial del sistema.

La desorganización de la red de paracaseína bajo presión y su posterior reconstrucción durante la fase de despresurización explican los cambios de morfología en la red proteica que se observan en las microfotografías del capítulo 3.3 (Saldo y col., 2001).

Los cambios inducidos por el tratamiento de alta presión se mantienen durante la maduración del queso, pero son menores que los producidos por ésta. En la Figura 7 se observan rodeados de un óvalo punteado los grupos de muestras separados por tratamiento. Los óvalos continuos separan estadios de maduración. Se distinguen los quesos poco madurados (de hasta 30 días) de los quesos completamente maduros (45 y 60 días de maduración). Los quesos recién tratados por alta presión pertenecen a su propio grupo. Estas agrupaciones fueron obtenidas mediante un análisis cladístico a partir de los parámetros originales y los grupos indicados son claramente reconocibles en la representación en el plano de los dos primeros componentes principales.



**Figura 7.** Representación en el espacio de componentes principales de la evolución de la textura de los quesos control (O) y tratados por alta presión (400 MPa, 14 °C, 5 min) ( $\Delta$ ). Las flechas indican los pesos de las variables principales en el espacio de componentes principales. Los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) explican conjuntamente el 89% de la variabilidad asociada a las variables originales de textura.

La textura de los quesos evoluciona desde una pasta blanda al inicio de su maduración a una textura quebradiza para las muestras completamente maduras. El aumento de la elasticidad durante la maduración se encuentra indicado por el aumento de los valores de  $k_1$  y  $\sigma_f$ .

La proteólisis y la pérdida de humedad son los dos principales procesos que guían los cambios en la textura de los quesos durante su maduración. El contenido en grasa respecto a extracto seco no varió durante el periodo de maduración, mientras que el pH y la concentración de sal variaron muy poco en el queso Garrotxa.

La red de caseína forma una estructura abierta, en forma de malla. La flexibilidad de las moléculas de caseína dentro de las partículas micelares imparte cierta elasticidad a la matriz, permitida por la estructura continua.

El tratamiento de alta presión produjo una disminución en los valores de  $\sigma_f$  y  $\sigma_{0,7}$  junto con un aumento de  $\sigma_{ad}$  y  $\epsilon_f$ . Los parámetros del ensayo de relajación de esfuerzo no variaron como consecuencia del tratamiento aplicado. El queso tratado por alta presión se volvió menos quebradizo, la fuerza aplicada en el ensayo produjo mayores deformaciones y la fractura necesitó menos fuerza. Esto indicaría un ablandamiento del queso a causa del debilitamiento de la matriz caseínica. Los productos de la degradación de las caseínas tienen una gran

solubilidad en agua y no contribuyen a la rigidez de la matriz del queso (Bertola, Bevilacqua y Zaritzky, 1992). Durante la maduración, el efecto de la proteólisis en la reducción de los valores de  $\sigma_f$  fue superado por la disminución de la humedad. La textura menos quebradiza de los quesos tratados por alta presión puede encontrarse determinada por los cambios en microestructura (Johnston y Darcy, 2000; Saldo y col., 2001).

## **4.7 COLOR**

El color de los alimentos es un parámetro sensorial muy importante en las decisiones de compra de los consumidores. El estudio de los cambios de color en el queso Garrotxa como consecuencia del tratamiento por alta presión y su evolución durante la posterior maduración fue considerado como de gran importancia. Los resultados de este estudio y las conclusiones derivadas se encuentran en el capítulo 3.5 (Saldo, Sendra y Guamis, 2002b).

El efecto de la presión sobre el queso es una disminución de la luminosidad (valor L) y un aumento de la intensidad del color (Chroma) sin apenas cambios en el tono del color tal como había sido observado en el capítulo 3.3 (Saldo y col., 2001). Esta intensificación del color del queso se puede atribuir a la reducción de los espacios vacíos en la microestructura del queso, volviéndose más densa y compacta.

Durante la maduración del queso su luminosidad disminuye debido a la concentración de componentes a causa de la pérdida de humedad. Pero los fenómenos bioquímicos que se suceden provocan una evolución hacia colores más amarillo-anaranjados. En la representación de los parámetros de color en un gráfico de componentes principales se observa que los efectos del tratamiento de 400 MPa sobre el color permanecen durante la maduración del queso, aunque a los 60 días de maduración las diferencias en el color de los quesos tratados por presión y los no tratados vuelve a ser reducida.

## 4.8 BIBLIOGRAFÍA

- Bertola, N. C., Bevilacqua, A. E. y Zaritzky, N. E. (1992). Proteolytic and rheological evaluation of maturation of Tybo Argentino cheese. *Journal of Dairy Science*, *75*, 3273-3281.
- Buffa, M., Guamis, B., Pavia, M. y Trujillo, A. J. (2001a). Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, *11*, 175-179.
- Buffa, M., Guamis, B., Royo, C. y Trujillo, A. J. (2001b). Microbial changes throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurised and high-pressure-treated milk. *Food Microbiology*, *18*, 45-51.
- Capellas, M., Mor-Mur, M., Sendra, E., Pla, R. y Guamis, B. (1996). Populations of aerobic mesophiles and inoculated *E. coli* during storage of fresh goat's milk cheese treated with high pressure. *Journal of Food Protection*, *59*, 582-587.
- Huppertz, T., Kelly, A. L. y Fox, P. F. (2002). Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *International Dairy Journal*, *12*, 561-572.
- Johnston, D. E. y Darcy, P. C. (2000). The effects of high pressure treatment on immature Mozzarella cheese. *Milchwissenschaft*, *55*, 617-620.
- Law, A. J. R., Leaver, J., Felipe, X., Ferragut, V., Pla, R. y Guamis, B. (1998). Comparison of the effects of high pressure and thermal treatments on the casein micelles in goat's milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*, 2523-2530.
- Messens, W., Dewettinck, K. y Huyghebaert, A. (1999). Transport of sodium chloride and water in Gouda cheese as affected by high-pressure brining. *International Dairy Journal*, *9*, 569-576.
- Messens, W., Dewettinck, K., Van Camp, J. y Huyghebaert, A. (1998). High pressure brining of Gouda cheese and its effect on the cheese serum. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, *31*, 552-558.
- Novella Rodríguez, S., Veciana Nogués, M. T., Saldo, J. y Vidal Carou, M. C. (2002). Effects of high hydrostatic pressure treatments on biogenic amine contents in goat cheeses during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Submitted
- O'Reilly, C., O'Connor, P. M., Kelly, A. L., Beresford, T. P. y Murphy, P. M. (2000). Use of hydrostatic pressure for inactivation of microbial contaminants in cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*, 4890-4896.
- O'Reilly, C. E., O'Connor, P. M., Murphy, P. M., Kelly, A. L. y Beresford, T. P. (2000). The effect of exposure to pressure of 50 MPa on Cheddar cheese ripening. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *1*, 109-117.
- Pavia, M., Trujillo, A. J., Guamis, B. y Ferragut, V. (2000). Effectiveness of high-pressure brining of Manchego-type cheese. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, *33*, 401-403.

- Saldo, J., McSweeney, P. L. H., Sendra, E., Kelly, A. L. y Guamis, B. (2000). Changes in curd acidification caused by high pressure treatment. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 39, 169.
- Saldo, J., McSweeney, P. L. H., Sendra, E., Kelly, A. L. y Guamis, B. (2002). Proteolysis in caprine milk cheese treated by high pressure to accelerate cheese ripening. *International Dairy Journal*, 12, 35-44.
- Saldo, J., Sendra, E. y Guamis, B. (1999). Evaluation of a method to accelerate ripening of goat cheeses using high hydrostatic pressure. *Alimentaria*, 36, 75-78.
- Saldo, J., Sendra, E. y Guamis, B. (2000). High hydrostatic pressure for accelerating ripening of goat's milk cheese: proteolysis and texture. *Journal of Food Science*, 65, 636-640.
- Saldo, J., Sendra, E. y Guamis, B. (2001). Hard cheese structure after a high hydrostatic pressure treatment at 50 MPa for 72 h applied on cheese after brining. *Lait*, 81, 625-635.
- Saldo, J., Sendra, E. y Guamis, B. (2002a). Changes in water binding in high-pressure treated cheese, measured by TGA (thermogravimetric analysis). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, In press
- Saldo, J., Sendra, E. y Guamis, B. (2002b). Colour changes during ripening of high pressure treated hard caprine cheese. *High Pressure Research*, 22, 659-663.
- Sendra, E., Saldo, J., Capellas, M. y Guamis, B. (2000). Decrease of free amino acids in high-pressure treated cheese. *High Pressure Research*, 19, 423-426.
- Yokoyama, H., Sawamura, N. y Motobayashi, N. (1992) Method for accelerating cheese ripening. Patent European Patent EP 0 469 857 A1.

## 5 CONCLUSIONES

1. El tratamiento del queso a 50 MPa causa un aumento en la proteólisis durante el tiempo de mantenimiento bajo presión.
2. Los efectos del tratamiento de 50 MPa sobre la microbiota y el ritmo de proteólisis son completamente reversibles.
3. El mantenimiento de los quesos durante 72 horas en un equipo de alta presión resulta inviable económicamente, ya que el aumento en los indicadores de maduración es moderado e insuficiente.
4. El tratamiento de 400 MPa produce cambios permanentes en el queso, aumentando el ritmo de proteólisis durante la subsecuente maduración.
5. Inmediatamente tras el tratamiento de 400 MPa se produce una reducción en la concentración de aminoácidos libres, pasando parte de éstos a ser no cuantificables. Durante la posterior maduración del queso el acelerado ritmo de proteólisis hace aumentar más la concentración de aminoácidos libres en los quesos tratados por alta presión.
6. La aplicación de presión produce un aumento en el pH del queso. Este cambio no revierte.
7. El tratamiento por alta presión de los quesos salados y oreados favorece la difusión de la sal, alcanzado un más rápido equilibrio en su distribución.
8. Los quesos tratados por alta presión retienen más humedad durante su madurado en condiciones normales de temperatura y humedad relativa.
9. Los tratamientos de alta presión influyen en la distribución de agua, incrementando la proporción de agua ligada y disminuyendo de este modo las pérdidas de humedad durante la maduración.
10. El tratamiento de 400 MPa produce una reducción de unidades logarítmicas en los recuentos de bacterias del fermento. Durante la posterior maduración del queso los recuentos se recuperan parcialmente.
11. El tratamiento de 400 MPa ocasiona ligeras modificaciones en los perfiles de productos volátiles y de productos de la proteólisis secundaria, probablemente por la inactivación parcial de algunos enzimas.

12. Los tratamientos de alta presión modifican la textura y microestructura del queso. La red proteica se vuelve más regular, disminuyendo los espacios vacíos en ella. El queso se convierte en menos quebradizo que su contrapartida no tratada por alta presión.
13. Mediante el estudio de la fracción volátil no se ha detectado la presencia de ningún compuesto nuevo en los quesos tratados por alta presión.
14. El color de los quesos tratados por alta presión cambia hacia una menor luminosidad (medida como una reducción del valor L) y un color más saturado (medido como un incremento en el valor Chroma).
15. El tratamiento a una presión de 400 MPa durante 5 min permite obtener quesos que desarrollan características muy satisfactorias de forma rápida durante la maduración en condiciones normales, posterior al tratamiento de presión.